Zoologische Anstalt der Universität Basel
Direktor: Prof. Dr. A. Portmann
und Laboratorium für Elektronenmikroskopie
Leiter: Prof. Dr. R. Schenk

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die imaginale Struktur und über die Entwicklung der dorsolongitudinalen Flugmuskeln von *Antheraea pernyi* Guer. *(Lepidoptera)*

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde eines Doktors der Philosophie
vorgelegt der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Basel

von

Gertrud Bienz-Isler

aus Basel, BS

19 68

BASEL (Schweiz) S. KARGER NEW YORK

1967

Genehmigt von der
Philosophisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
auf Antrag der
Herren Professoren Dr. H. Nüesch und Dr. A. Portmann

Basel, den 7. Februar 1967

Prof. Dr. H. Huber
Dekan

Separatabdruck aus «Acta Anatomica», Vol. 70, pp. 416–433, 524–553 (1968).

Acta anat. *70:* 416–433 (1968)

Zoologische Anstalt der Universität Basel
Direktor: Prof. Dr. A. Portmann
und Laboratorium für Elekronenmikroskopie
Leiter: Prof. Dr. R. Schenk

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die imaginale Struktur der dorsolongitudinalen Flugmuskeln von *Antheraea pernyi* Guer. *(Lepidoptera)*[1]

I. Teil

Gertrud Bienz-Isler

[1] Diese Arbeit wurde der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel als Teil einer Inauguraldissertation zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde vorgelegt.

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Einleitung

In der Flugmuskulatur vom *Antheraea pernyi* wirken die dorsolongitudinalen (dl) und die dorsoventralen Muskeln als Antagonisten, wobei die dorsolongitudinalen Muskeln als Flügelsenker die Hauptarbeit leisten. Die dl-Muskeln, die in der vorliegenden Arbeit beschrieben werden, sind in 5 Bündel gegliedert (Anatomie siehe NÜESCH [1953] und EIGENMANN [1966]). Sie entsprechen dem von PRINGLE [1957] beschriebenen Typ der sogenannten «close packed fibers», der bei allen Lepidopteren zu finden ist. Die Flugmuskeln der Schmetterlinge sind synchron, d.h. jede Muskelkontraktion erfordert einen Nervenimpuls. Dieser Muskeltypus zeigt eine besondere Anordnung der Mitochondrien, des endoplasmatischen Retikulums und des T-Systems (siehe Übersicht SMITH [1965a]).

Die Untersuchungen der Feinstruktur des adulten Muskels bilden die Grundlage für die Interpretation der Strukturen in der nachfolgenden Arbeit (BIENZ [1968]), welche die Entwicklung der Flugmuskeln in der Puppe des Schmetterlings *Antheraea pernyi* zum Thema hat.

Die vorliegende Arbeit entstand unter der Leitung meines verehrten Lehrers Professor Dr. H. NÜESCH. Für sein Interesse und die wertvollen Anregungen möchte ich ihm herzlich danken. Ebenso danke ich Herrn Dr. W. STÄUBLI (CIBA, Basel), der mir in zuvorkommender Weise mit seinen anregenden Ratschlägen und Hinweisen zur Seite stand, Herrn W. VILLIGER (Laboratorium für Elektronenmikroskopie, Basel) und Herrn J. SUTER (CIBA, Basel) für ihre technischen Ratschläge.

Material und Methode

Material

Für die Untersuchungen des Baus und der Morphogenese der imaginalen dorsolongitudinalen Flugmuskulatur wurden Imagines und Puppen des chinesischen Nachtpfauenauges, *Antheraea pernyi*, verwendet.

Die leichte Züchtbarkeit ist ein großer Vorteil dieses Objekts. Die Larvalzeit dauert zirka 6 Wochen. Die Tiere wurden mit Eichenlaub gefüttert. Je nach Belichtungsdauer und Temperatur während dieser Zeit folgt der Verpuppung eine Diapause von mindestens 10 Wochen oder aber die Imaginalentwicklung setzt sofort nach der Verpuppung ein. Bei einer täglichen Belichtungszeit von 6–12 Stunden während der Larvalzeit folgt der Verpuppung eine Diapause. Nach der Verpuppung wurden die Tiere bei 4° C im Kühlschrank aufbewahrt. Nach etwa 10 Wochen wurden die Puppen in den Thermostat mit einer Temperatur von 24–25° C gebracht, wobei eine tägliche Belichtungszeit von 17 Stunden sich für einen raschen Entwicklungsbeginn als besonders günstig erwies. Die Entwicklungsdauer von der Diapausepuppe zur Imago beträgt 21 Tage.

Für die Altersbestimmung konnte die Zeittabelle von *Antheraea polyphemus* (NÜESCH [1965]) verwendet werden. Nur für die ersten 5 Tage wurde eine eigene Tabelle nach der Entwicklung der Genitalorgane aufgestellt, da die Morphologie der beiden Arten nicht übereinstimmt.

Das Alter der Tiere wurde nach Tagen angegeben, z.B.: 3. Tag bedeutet: 3. Tag nach Beginn der Imaginalentwicklung.

Methode

Um bei der Fixierung eine möglichst geringe Kontraktion der Muskelfaser zu erhalten, wurden mehrere Fixierungsmittel geprüft: OsO_4, Glutaraldehyd, Hydroxyadipaldehyd (SABATINI, BENSCH und BARNETT [1963]) und Formalin (HOLT und HICKS [1961]). Glutaraldehyd erwies sich als die günstigste Substanz, die die größte Sarkomerenlänge ergab. Außerdem bleiben hier bestimmte Plasmaorganellen (Microtubuli) am besten erhalten (PAGE und HUXLEY [1963]).

Nach der Methode von PAGE und HUXLEY wurden die Muskelanlagen in den Puppen und die Mehrzahl der Imaginalmuskeln nach CO_2-Narkotisierung mit 6,5 % Glutaraldehyd, gepuffert mit 0,1 M Cacodylatpuffer (pH 7,4) *in situ* während ca. 10 Minuten vorfixiert und nach dem Herauspräparieren für ungefähr 2 Stunden in der kalten Fixierlösung belassen. Mit einer 2 % OsO_4-Lösung (nach PALADE [1952]) wurde das Material während einer halben bis einer Stunde nachfixiert; anschließend folgte eine Entwässerung in der steigenden Azetonreihe, wobei mit 50 % Azeton begonnen wurde. Zur Vorkontrastierung wurden die Muskelfasern unter Zugabe von 1 % Uranylazetat in 75 % Azeton über Nacht im Kühlschrank belassen. Nach Verdrängung des Azetons aus dem Gewebe durch Einlegen in Propylenoxyd während zweimal 5 Minuten, wurde das Material in Epon 812 eingebettet (nach LUFT [1961]). Ein Teil der adulten Muskelstränge wurden erst nach dem Herauspräparieren aus dem Mesothorax mit Glutaraldehyd fixiert. Das Abtrennen der Muskeln vom Chitinpanzer wirkt dabei als Kontraktionsreiz, so daß sie sich auf ca. 60 % ihrer *in situ*-Länge zusammenzogen.

Die Schnitte wurden mit dem Porter-Blum-Mikrotom mit einem Diamantmesser hergestellt und mit Blei-Hydroxyd (MILLONIG [1961]) oder Bleiazetat (REYNOLDS

[1963]) nachkontrastiert. Die elektronenmikroskopischen Untersuchungen erfolgten mit dem Siemens Elmiskop I bei einer Beschleunigungsspannung von 80 kV (Objektivblende 50 μ).

Befunde

A. Myofibrillen

1. Anordnung und Form der Fibrillen

Das kontraktile Material ist in Form von zylindrischen Fibrillen angeordnet, deren Querschnitt selten ganz kreisrund ist. Ihr Durchmesser variiert zwischen 1,4 und 2,3 μ. Sie liegen in unterschiedlichen Abständen von durchschnittlich 1,6 μ parallel nebeneinander. Die Zwischenräume werden hauptsächlich durch Mitochondrien, Bläschen des sarkoplasmatischen Retikulums und die transversalen Plasmamembranröhren ausgefüllt (Abb. 1). Ferner liegen im Plasma viele Granula verstreut, die in ihrem Durchmesser (ca. 200 Å) den Glykogengranula entsprechen (vgl. Smith [1965]). Sie sind auf der Höhe der Z-Bänder sehr stark angereichert.

2. Sarcomeren

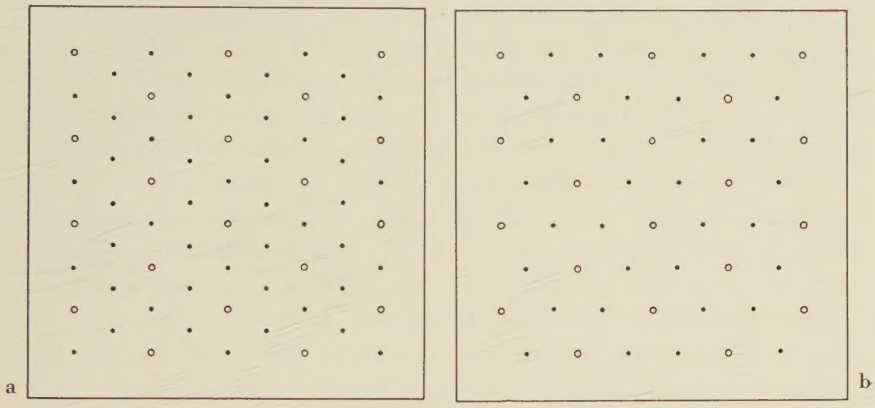
Wie alle Insektenmuskeln sind auch die dorsolongitudinalen Flugmuskeln von *Antheraea pernyi* quergestreift. Die Sarkomeren werden durch die Z-Bänder begrenzt; dazwischen liegen I-, A- und H-Bänder in der Reihenfolge: I-A-H-A-I. Die mittlere Länge einer Sarcomere beträgt 3,5 μ.

a) A-Band. Das A-Band weist eine Länge von 2,5–3,5 μ auf. Es wird durch die 140–150 Å dicken *Myosinfilamente* bestimmt. Sie besitzen keine homogene Struktur; um eine dichte innere Mittelachse sind unscharf begrenzte, strahlenförmig angeordnete Linienstrukturen, die Brücken, zu erkennen. Zwischen den Myosinfilamenten liegen die dünneren *Aktinfilamente* mit einem Durchmesser von ungefähr 70 Å. Der Abstand zwischen Myosin- und Aktinfilamenten beträgt zirka 180 Å (Variationen 144–214 Å). Die beiden Filamenttypen stehen gegenseitig in periodischen Abständen von ca. 400 Å durch die oben erwähnten Brücken in Verbindung (vgl. Huxley [1957], u. a.).

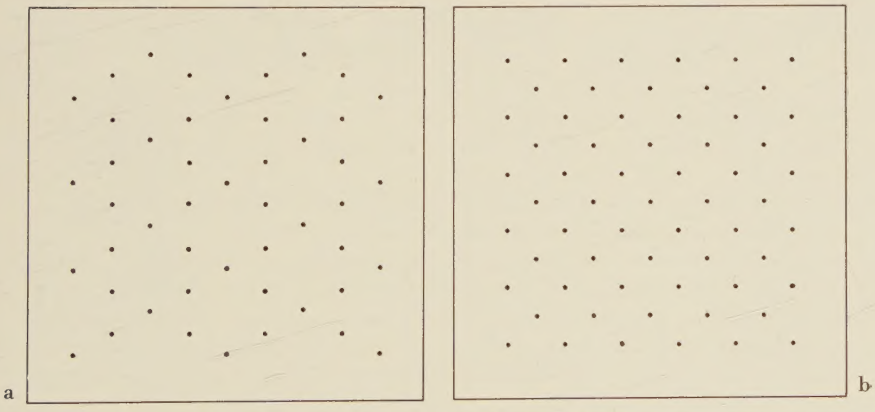
Die für Insektenmuskeln charakteristische Anordnung der Filamente (vgl. Übersicht Smith [1962]) ist im Querschnitt auf der Höhe des A-Bandes klar zu erkennen (Abb. 4): In der Mitte zwischen je 2 Myosinfilamenten liegt ein Aktinfilament; das Verhältnis von Myosin- zu Aktinfilamenten ist 1:3. Im Vertebratenmuskel dagegen liegt immer in der Mitte des von drei Myosinfilamenten gebildeten Drei-

ecks ein Aktinfilament, so daß die von den Myosinfilamenten gebildeten Sechsecke gegenüber denjenigen des Insektenmuskels um 30° um ihre Achse gedreht sind. Das Verhältnis der Myosin- zu den Aktinfilamenten ist demnach im Vertebratenmuskel 1 : 2 (Schema I a und b).

b) H-Band. In der Mitte des A-Bandes sind die dünnen Aktinfilamente unterbrochen, wodurch ein H-Band entsteht, dessen Breite entsprechend der Sarkomerenlänge variiert (Abb. 2). Oft liegen die Enden der Aktinfilamente nicht auf der gleichen Höhe, so daß die Grenze des H-Bandes unscharf wird. Bemerkenswert ist, daß sich auch die Myosinfilamente in dieser Zone durch eine Besonderheit aus-



Schema I a und b. Querschnitte durch A-Band. – a) Insektenflugmuskel (*Antheraea pernyi*). – b) Vertebratenmuskel.



Schema II a und b. Querschnitte durch I-Band beim Übergang ins Z-Band. – a) Insektenflugmuskel. – b) Vertebratenmuskel.

zeichnen: Betrachten wir die Fibrille auf der Höhe der H-Zone im Querschnitt, so können wir feststellen, daß die sonst runden Filamente plattgedrückt sind und somit einen flachrechteckigen Querschnitt annehmen (Abb. 4). Diese flachen Filamentquerschnitte sind im adulten Muskel ohne erkennbare Gesetzmäßigkeit orientiert. Im Gegensatz dazu ist am 16. Tag an dieser Stelle in einzelnen Fällen eine gewisse Ordnung zu erkennen, denn die flachen Filamente sind gruppenweise vorwiegend nach drei Richtungen hin ausgerichtet, die in einem Winkel von 120° zueinander liegen. Dieser Winkel entspricht demjenigen der Sechsecke, die durch die wabenförmige Anordnung der Myosinfilamente entstehen.

Ein M-Band ist in der H-Zone nicht vorhanden; dafür sind unregelmäßig im H-Band verteilt in einigen Sarkomeren glykogen-ähnliche Granula (vgl. Abschnitt A1) zu finden (Abb. 2).

c) *I-Band.* Die Verhältnisse des A- und H-Bandes stimmen weitgehend mit den vergleichbaren Strukturen beim Wirbeltier überein. Im Gegensatz zu diesen enden jedoch die Myosinfilamente bei *A. pernyi* nicht an der Grenze zwischen A- und I-Band. Allerdings sind sie auch nicht durchgehend bis zum nächsten A-Band vorhanden, wie dies von GARAMVÖLGYI [1964, 1965] am Flugmuskel der Biene beschrieben wurde. Bei *Antheraea pernyi* verjüngt sich zunächst die innere dichte Struktur der Myosinfilamente, gleichzeitig erscheinen die Brücken, die auf Querschnitten durch das A-Band als

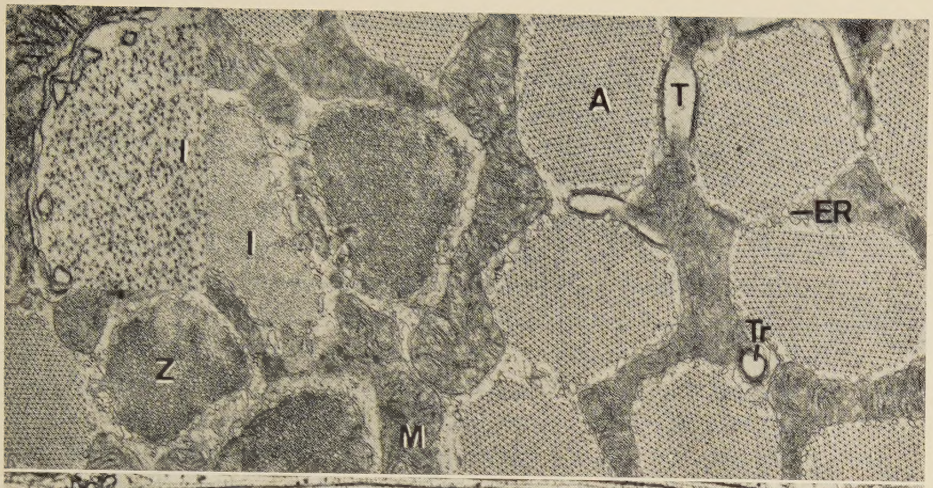
---

A = A-Band
B = Basalmembran
ER = Endoplasmatisches Retikulum
H = H-Band
I = I-Band
K = Kern
M = Mitochondrium
T = T-System
Tr = Tracheole
Z = Z-Band

Abb. 1. Querschnitt durch Muskelfaser einer Imago. A-, I- und Z-Band sind sichtbar. Das endoplasmatische Retikulum umgibt die Fibrillen wie eine Hülle. Die Mitochondrien sind dicht gepackt mit Cristae und zeigen eine starke Ausdehnung im Querschnitt. ×12000.
Einsatzbild: Vergrößerter Ausschnitt aus dem I-Band. Das N-Band ist durch verstärkte Brücken am Ende der A-Filamente markiert. ×56000.

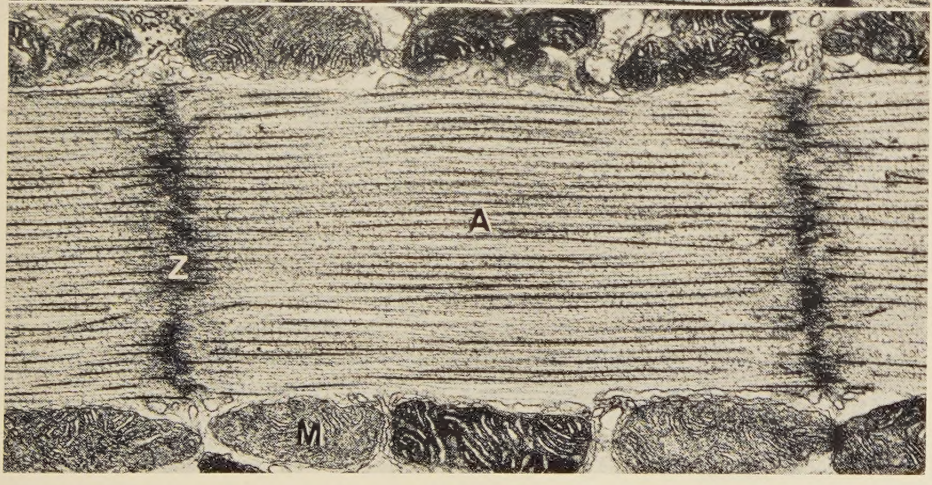
Abb. 2. Längsschnitt aus Muskelfaser am 17. Entwicklungstag. Das H-Band ist durch Fehlen von I-Filamenten und außerdem durch Glykogengranula markiert. Die Z-Bandstruktur ist im Vergleich zum adulten Z-Band verhältnismäßig deutlich. Die verdichteten Filamente laufen meistens leicht schräg parallel durch das Z-Band (Pfeil 2), doch ist an einzelnen Stellen ein unregelmäßiges Zickzackmuster zu erkennen (Pfeil 1). × 30000.

Abb. 3. Adulte Muskelfaser während Tetanus. Längsschnitt. Die am Ende leicht verdickten A-Filamente haben z.T. das Z-Band durchstoßen oder sind abgebogen worden. ×30000.



1

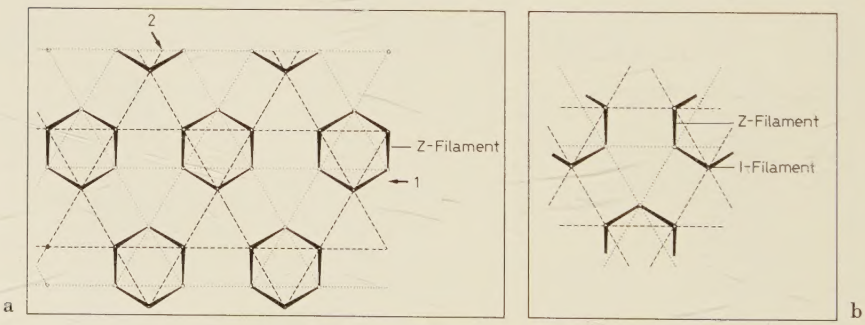
2



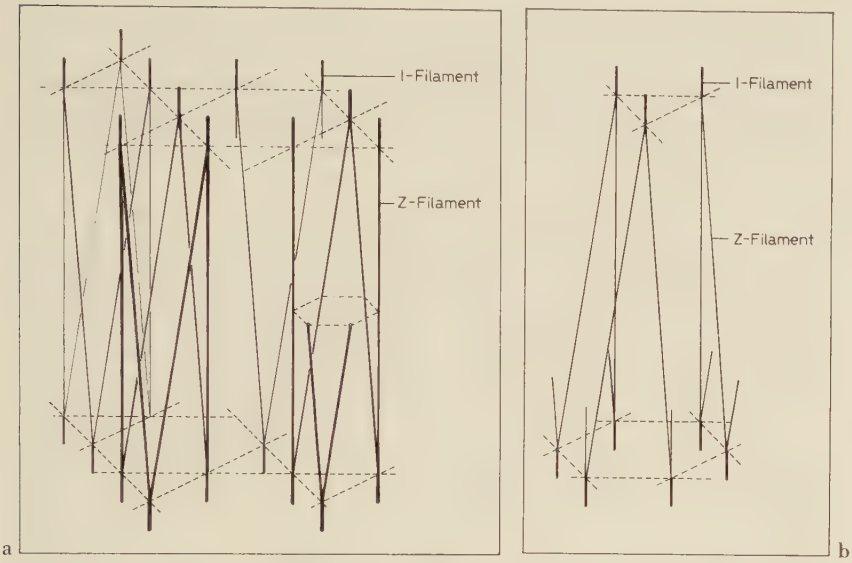
3

unscharf begrenzte, strahlenförmig um die Myosinfilamente angeordnete Linienstrukturen zu erkennen sind, leicht verbreitert und verfilzt. Gegen das Ende der Myosinfilamente verstreicht der dunkle Innenstrang und es scheint nur noch das Brückenmaterial übrig zu bleiben (Abb. 1, Einsatzbild). Im Längsschnitt ist diese Zone als ein etwas dunkleres Band im I-Band kaum sichtbar. Nach der Lage entspricht es dem N-Band, das in manchen lichtmikroskopischen Untersuchungen beschrieben wurde (siehe EIGENMANN [1965]).

d) Z-Band. Aus Aufnahmen von imaginalen Z-Bändern läßt sich der Aufbau nur schwer eruieren, da selbst sehr dünne Schnitte ein undeutliches Bild liefern. Dies mag zunächst auf die Komplexität der Struktur, außerdem auf die Füllmasse, mit der das Filamentgerüst durchsetzt ist, und die wesentlich elektronendichter ist als das Zwischengebiet zwischen den Filamenten im I-Band, zurückzuführen sein. Am 16. Tag läßt sich die Struktur des Z-Bandes etwas leichter verfolgen (Abb. 5). Je nach Schnittebene laufen die verdickten Filamente in Längsschnitten parallel durch das Z-Band, oder aber sie treten als unregelmäßiges Zick-Zack-Muster in Erscheinung (Abb. 2 und Schema IIIa). Aus den Abb. 2 und 5 läßt sich schematisch folgende Struktur ableiten: je ein I-Filament teilt sich in zwei Untereinheiten auf, die jenseits des Z-Bandes zwei verschiedene I-Filamente treffen (Schema IIIb und IVb). Werden die Querschnitte auf beiden Seiten des Z-Bandes miteinander verglichen, so liegt einem Dreieck der einen Seite auf der andern Seite ein Sechseck gegenüber (Schema III und IV).



Schema IIIa und *b*. – a) Schema des Z-Bandes (Ansicht von oben). 1 = Schnittebene, in der die Z-filamente im Zick-Zackmuster in Erscheinung treten, 2 = Schnittebene, in der die Z-Filamente parallel erscheinen. – b) Ausschnitt aus a. Je ein I-Filament teilt sich in zwei Untereinheiten auf, die jenseits des Z-Bandes zwei verschiedene I-Filamente treffen.



Schema IV a und b. – a) Schema des Z-Bandes (seitliche Ansicht von schräg oben). – b) Ausschnitt aus a.

e) Sarkomerenlängen. Die Sarkomerenlänge hängt weitgehend vom Kontraktionszustand und dieser wiederum von der Präparationsmethode ab (Tabelle I).

Tabelle I

Faserzustand	Sarkomerenlänge	
	Durchschnittswert	Extremwerte
nicht oder nur leicht kontrahiert	3,6 μ	3,0 – 4,3 μ
narkotisiert mit CO_2	3,6 μ	3,5 – 3,7 μ
herausgeschnitten vor der Fixierung . .	2,8 μ	2,7 – 3,0 μ
Tetanus.	2,7 μ	2,68 – 3,1 μ
erschlafft nach Tetanus	3,6 μ	3,4 – 3,9 μ

Faser nicht oder nur leicht kontrahiert

Flugmuskeln von Tieren, die vor der Präparation mit CO_2 narkotisiert und dann *in situ* mit Glutaraldehyd fixiert wurden, können als nicht oder nur leicht kontrahiert betrachtet werden. Bemerkenswert ist, daß die Extremwerte außerordentlich weit auseinanderliegen, und daß diese Unterschiede nicht nur in verschiedenen Fasern, sondern lokal in ein und derselben Faser, ja sogar in der gleichen Fibrille

auftreten können. Bilder von solchen Muskeln entsprechen den Beschreibungen im Abschnitt 2 a–d.

Wurde auch die Fixierung unter CO_2-Einfluß durchgeführt, so konnte lediglich eine stärkere Verdichtung der Mitochondrienmatrix beobachtet werden.

Faser vor der Fixierung herausgeschnitten

Schneidet man die Muskelstränge ohne Narkose vor der Fixierung aus dem Thorax heraus, können sie sich ungehindert auf ca. 60 % ihrer Länge zusammenziehen. Im elektronenmikroskopischen Bild kommt dies in einer Veränderung der Sarkomeren zum Ausdruck. Die Sarkomerenlänge beträgt 2,7–3 μ, doch wird die Verkürzung der Muskelfasern oft noch zusätzlich durch Abwinklung der Sarkomeren gegeneinander verstärkt. Infolgedessen ist die Gesamtmuskelverkürzung größer, als sie auf Grund der veränderten Sarkomerenlänge betragen würde.

Außer dem Z- und dem A-Band ist hie und da noch ein äußerst schmales I-Band erkennbar; doch ist es oft ganz verschwunden, indem sich die Myosinfilamente bis dicht an, einzelne sogar durch das Z-Band hindurch geschoben haben. Die Enden der Myosinfilamente sind im Gegensatz zu denjenigen im gedehnten Muskel eher etwas verdickt. Es kommt auch vor, daß einzelne Myosinfilamente das Z-Band nicht zu durchstoßen vermögen und abgebogen werden (Abb. 3). Hier stellte sich die Frage, ob diese Erscheinung nicht eine irreversible Veränderung des Muskels bedeutet. Folgender Versuch zeigt, daß dies nicht der Fall ist:

Faser während Tetanus

Um feststellen zu können, ob eine sehr starke Kontraktion der Faser die gleichen Folgen zeitigt, wurde durch Stimulation ein Tetanus hervorgerufen[2]. Das so entstandene Bild entspricht der Beschreibung im vorhergehenden Abschnitt. Es ist ebenfalls höchstens regional ein sehr schmales I-Band festzustellen, während das H-Band ganz

[2] Dazu wurde eine Imago narkotisiert und sagittal halbiert. In der einen Hälfte wurde durch Stimulation mit Hilfe von zwei Platinelektroden, die in die Muskeln eingestochen wurden, mit einer Spannung von 1 V und mit einer Frequenz von etwa 30 Reizen pro sec ein Tetanus hervorgerufen. In dieser Situation wurden die Muskeln mit Glutaraldehyd während mehreren Minuten fixiert, herausgeschnitten und wie üblich zu elektronenmikroskopischen Schnitten verarbeitet.

wegfällt (Abb. 3). Es fällt im Gegenteil auf, daß in der Sarkomerenmitte die Aktinfilamente dichter liegen als an den Enden. Durch die Verkürzung der Sarkomeren auf eine Länge von durchschnittlich 2,7 μ werden die Aktinfilamentenden in der Sarkomerenmitte aneinander vorbeigeschoben.

Faser erschlafft nach Tetanus

Um nun zu zeigen, daß die im Tetanus abgeknickten Myosinfilamente nicht eine irreversible Veränderung darstellen, wurde ein anderer Muskelstrang erst während der Erschlaffung nach dem Tetanus fixiert. Die Erschlaffung erfolgt regional verschieden stark, so daß gleichzeitig verschiedene Dilatationsgrade vorkommen.

Die so gewonnenen Sarkomeren weisen eine Länge von 3,9 μ auf, wobei das A-Band etwa 3,2 μ und das I-Band 0,8 μ mißt. In der Mitte des A-Bandes ist ein noch schwach ausgeprägtes H-Band erkennbar. Es sind vor allem nirgends mehr abgebogene oder verschobene A-Filamente zu finden, was zeigt, daß die Veränderung während des Tetanus reversibel ist.

B. Mitochondrien

Der Hauptanteil des interfibrillären Raumes wird von den Mitochondrien eingenommen. Sie liegen dicht gepackt zwischen den Fibrillen; ihre Zahl entspricht den hohen metabolischen Anforderungen der Flugmuskulatur. Die Anordnung der Mitochondrien ist an die Querstreifung gebunden: pro Sarkomere liegen drei Mitochondrien zwischen den Myofibrillen. Je nach Kontraktionsgrad der Faser ist ihre Form oval bis quadratisch und ihre Länge variiert entsprechend von 0,8–1,2 μ. Ein Vergleich von Längs- und Querschnitten zeigt, daß die transversale Ausdehnung die Längsausdehnung bei weitem übertrifft, sie haben im Querschnitt ein amöbenförmiges Aussehen und umgreifen mit ihren Verzweigungen mehrere Fibrillen (Abb. 1). Auf diese Weise entsteht um jede Fibrille ein dichter Mitochondrienmantel, der die Energieversorgung des kontraktilen Systems garantiert.

Die Mitochondrien sind durch eine Doppelmembran begrenzt. Die äußere Membran ist ca. 70Å dick; Die Anordnung der Cristae zeigt keine Gesetzmäßigkeit. Immer bündelweise verlaufen mehrere Cristae parallel und manchmal auch in konzentrischen Kreislinien, was zu einer dicht geknäuelten Anordnung führt.

C. Endoplasmatisches Retikulum, Sarcolemm und Tracheolen

Das endoplasmatische Retikulum besteht aus zusammenhängenden Bläschen, die wie ein Netz sämtliche Fibrillen einhüllen (Abb. 1). Jeweils zwischen H- und Z-Band, zwischen je zwei Mitochondrien liegen die sogenannten Triaden (Porter und Palade [1957]). Eine Triade ist aus drei Elementen zusammengesetzt: Aus einer runden bis hantelförmigen mittleren Zisterne und aus zwei flachen Bläschen des endoplasmatischen Retikulums, die durch ihren elektronendichten Inhalt auffallen. Die beiden Bläschen liegen beidseitig an dem der Fibrille zugewandten Teil der Zisterne, wobei die aneinanderliegenden Membranen einen konstanten Abstand von 170 Å einhalten. Der dazwischenliegende Raum wird von einer dichten Struktur ausgefüllt (Abb. 6).

Auf einem Querschnitt, der auf dem Niveau einer Triade liegt (Abb. 6), kommt deutlich zur Darstellung, daß der mittlere Abschnitt der Triade ein Teil eines transversalen Röhrensystems ist, das die Fibrillen auf dieser Höhe umschließt, das sogenannte T-System (Smith [1961 a und b]). Abb. 7 zeigt, daß die Wand dieses Röhrensystems durch die Plasmamembran der Muskelfaser gebildet wird, währenddem die über der Plasmamembran liegende Basalmembran an der Oberfläche der Faser bleibt. Die Plasmamembran weist eine Dicke von 70 Å auf und entspricht in ihrem Bau der «unit membrane» von Robertson [1961]. Die Basalmembran ist von sehr lockerer Struktur; ihre Dicke liegt in der Größenordnung von 280 Å.

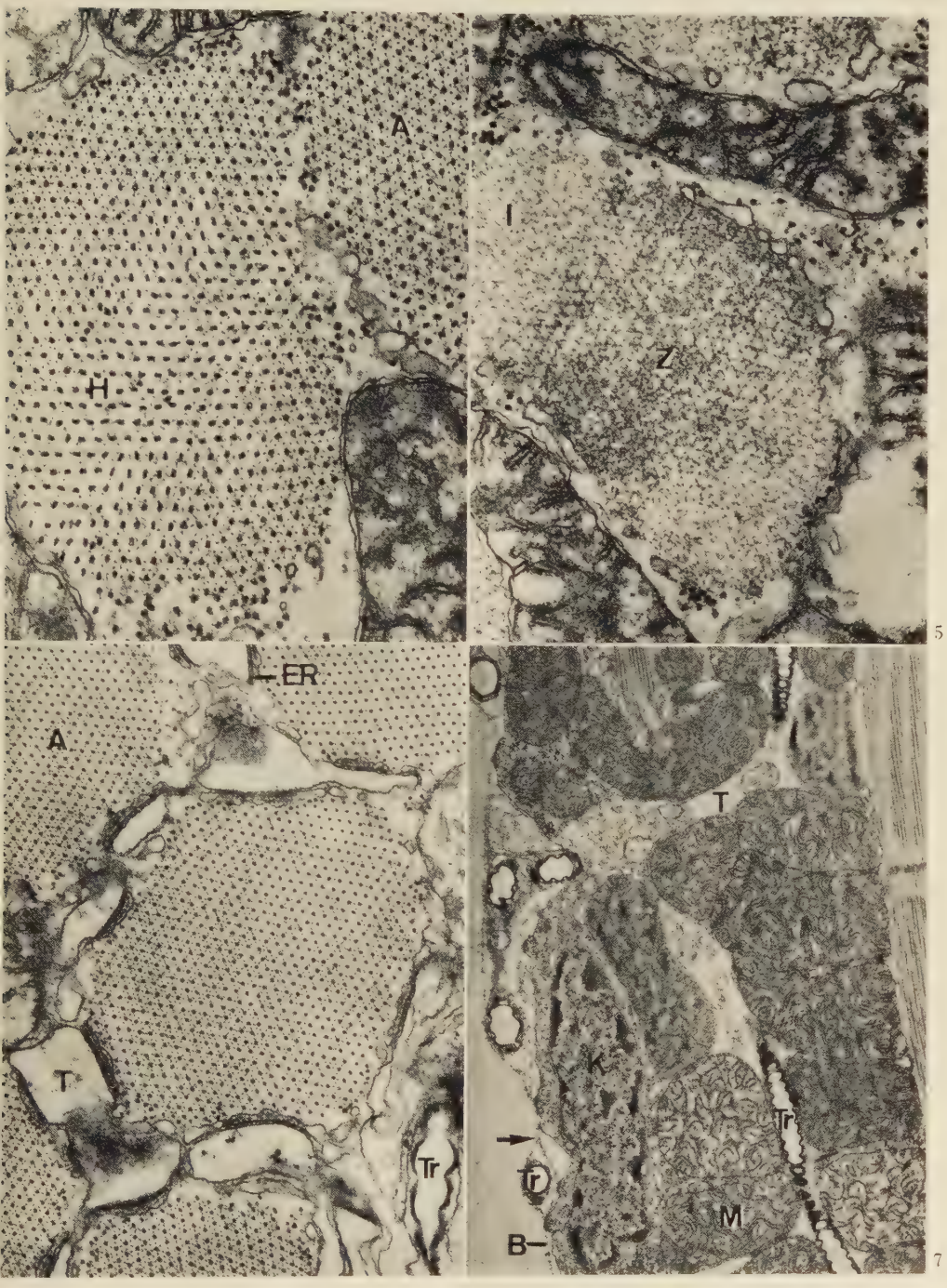
Abb. 4–6. Querschnitte durch Muskelfasern vom 16. Entwicklungstag.

Abb. 4. Im A-Band ist die Anordnung der beiden Filamenttypen erkennbar. Das H-Band ist durch Fehlen der I-Filamente und durch flachrechteckige Querschnitte der A-Filamente gekennzeichnet. ×42000.

Abb. 5. Querschnitt auf der Höhe des Z-Bandes. In der Mitte des Z-Bandes ist keine geordnete Struktur wahrzunehmen; hingegen bilden die I-Filamente auf beiden Seiten des Z-Bandes ein deutliches Muster, wobei jeweils ein Sechseck von 6 Dreiecken umgeben ist.

Abb. 6. Querschnitt auf der Höhe einer Triade. Der mittlere Teil der Triade ist ein Bestandteil eines transversalen Röhrensystems, das die Fibrillen umschließt. × 28000.

Abb. 7. Längsschnitt durch die Randregion einer imaginalen Muskelfaser. Die Plasmamembran setzt sich in der begrenzenden Membran des T-Systems fort; die darüberliegende Basalmembran bleibt an der Oberfläche der Faser. Die Tracheolen verlaufen im T-System. Außerhalb der Faser geht die Basalmembran des Tracheoblastenfortsatzes in diejenige der Muskelfaser über (Pfeil). ×10000.


A
H
I
Z
5
ER
A
T
Tr
T
K
Tr
tr
M
B
7

Ein weiterer wichtiger Punkt wird auf der Abb. 7 ersichtlich: In einem Teil der sarkolemmalen Invaginationen verlaufen auch die Tracheolen, wobei die die Tracheolen enthaltenden Abzweigungen, im Gegensatz zum übrigen System, parallel zur Längsachse der Muskelfaser verlaufen. An der Grenze der Muskelfaser geht die Basalmembran des Tracheoblastenfortsatzes in diejenige der Muskelfaser über (Abb. 7) (Vergleiche Smith [1961a]).

Die Tracheolenintima ist von einer dreifachen Membranhülle umgeben (Smith [1961a]). Dieser ist zusammengesetzt aus einer Grenzmembran, die die Tracheolenintima von der dünnen Plasmahülle des zytoplasmatischen Fortsatzes der Tracheolenendzelle abtrennt, aus der Plasmamembran dieses Fortsatzes und außerdem aus der invaginierten Plasmamembran der Muskelfaser (Abb. 7). Die Basalmembranen beider Zellen bleiben, wie oben beschrieben, außerhalb des T-Systems und schließen so die Hämolymphe von dem sarkolemmalen Röhrensystem ab.

D. Zellkerne

Kerne liegen in der imaginalen Muskelfaser in größeren Abständen an der Faserperipherie und sind gewöhnlich etwa 5 μ lang. Der Kern ist von zwei Membranen umgeben, deren äußere über kurze Strecken mit Ribosomen besetzt ist. Kernporen sind im adulten Tier seltener anzutreffen als in Entwicklungsstadien (Abb. 7). Das Chromatin ist in großen Schollen an die innere Kernmembran angelagert; das übrige Kernplasma ist granulär.

Diskussion der Ergebnisse

Bei den meisten Muskeln wurde, zum Teil mit Vorbehalt in einigen Details, das «sliding filament»-Modell von Huxley [1957] bestätigt. Auch bei *Antheraea pernyi* liegt ein Muskel vor, dessen Struktur diesem Modell entspricht. Die Anordnung der Filamente entspricht derjenigen, wie sie von verschiedenen Autoren (vgl. Übersicht von Smith [1962]) bei Insekten beschrieben wurde. H. E. Huxley [1963] zeigte weiter noch, daß es sich nicht nur um die zwei Proteine Aktin und Myosin handelt, sondern daß sich in den Myosinfilamenten zwei verschiedene Myosine nachweisen lassen: das «heavy meromyosin» (HMM), das mit den Brücken in Verbindung zu bringen ist, und das «light meromyosin» (LMM), das der dichten Innenstruktur der Myosinfilamente zugeordnet werden kann. Bei *Antheraea pernyi* hören die

Myosinfilamente, im Gegensatz zum Modell von HUXLEY, nicht an der Grenze zwischen A- und I-Band auf. Am Ende der Myosinfilamente verjüngt sich die dichte Innenstruktur (nach HUXLEY das LMM) auslaufend und hört schließlich auf. Gleichzeitig werden die Brücken (nach HUXLEY das HMM), die die Myosinfilamentenden mit den Aktinfilamenten verbinden, verstärkt und verlängert. Die daraus resultierende Verfilzung der Filamente, etwa in der Mitte des I-Bandes, entspricht der Lage nach dem in manchen lichtmikroskopischen Arbeiten beschriebenen N-Band (EIGENMANN [1965]). Wenn man die Deutung von HUXLEY auch für *Antheraea pernyi* für gültig erachtet, so besteht das N-Band aus HMM.

Nach NEEDHAM [1960] bleiben beim Ineinanderschieben der Aktin- und Myosinfilamente die reagierenden Gruppen pro Verkürzungseinheit gleich. Dies kann erreicht werden, indem entweder an den Aktinfilamenten nur die Spitzen mit aufeinanderfolgenden Gruppen am Myosin reagieren, oder an den Myosinfilamenten nur die Enden in der Nähe des I-Bandes aktive Gruppen tragen, welche Punkt für Punkt an den Aktinfilamenten reagieren. Die letztere Möglichkeit scheint bei den Muskeln von *Antheraea pernyi* verwirklicht zu sein, wo die verstärkten Brücken an den Myosinfilamentenden auf eine erhöhte Reaktivität des HMM mit den Aktinfilamenten hinweisen. GARAMVÖLGYI [1964, 1965] und SHAFIG [1963] haben gefunden, daß die Myosinfilamente nicht an der A-I-Grenze enden, sondern daß sie sich sukzessiv verjüngen. Bei dem von GARAMVÖLGYI untersuchten Objekt, der Biene, scheint dann allerdings, im Gegensatz zum Huxley-Modell und zu den Resultaten von SHAFIG, aus der Verjüngung der Myosinfilamente eine zweite Art von dünnen Filamenten, neben den Aktin-Filamenten, zu resultieren, die das I-Band und dann in verdickter Form das Z-Band passieren. Doch im Fall von *Antheraea pernyi* konnten in der Nähe des Z-Streifens im Querschnitt keine verjüngten Myosinfilamente beobachtet werden. Hingegen scheint der Mechanismus bei *Antheraea pernyi* dennoch bis zu einem gewissen Grad mit dem von GARAMVÖLGYI beschriebenen übereinzustimmen. Bei *Antheraea pernyi* sind im kontrahierten Muskel (Tetanus) die Myosinfilamentenden verdickt. Die von GARAMVÖLGYI beobachtete Fähigkeit der Myosinfilamente, sich im I-Band zu verkürzen, trifft hier also für die auslaufenden Spitzen der Myosinfilamente ebenfalls zu. Dies würde auch die Variationen in der A-Bandlänge erklären. Solche wurden auch von ARONSON [1963] bei Arthropodenmuskeln (Milben, Ostracoden, *Drosophila*) beschrieben.

Der Aufbau des Z-Bandes wurde bei *Rana temporaria* und *Rana esculenta* von Knappeis und Carlsen [1962] und bei Larven von *Amblystoma punctatum* und *Rana clamitans* von Franzini-Armstrong und Porter [1963] in weitgehender Übereinstimmung beschrieben. Diese Autoren nehmen folgende Struktur des Z-Streifens an: In der Nähe des Z-Bandes wird die im I-Band hexagonale Anordnung der Aktin-Filamente tetragonal (Schema IIb). Jedes Aktin-Filament verzweigt sich an der Z-Linie in 4 Filamente, von denen jedes in der nächsten Sarkomere ein anderes Aktin-Filament trifft. Während Knappeis und Carlsen diese verzweigten Filamente als eigentliche Z-Filamente auffassen, neigen Franzini-Armstrong und Porter eher zur Ansicht, daß eine rein membranöse Struktur die Z-Scheibe bildet. Im Insektenmuskel ist die Voraussetzung für die Struktur des Z-Bandes eine andere: Die Anordnung der Aktin Filamente im Bereich des Z-Bandes entspricht eindeutig derjenigen im A-Band (Schema II), was zu einem anderen Schema führen muß als bei den Vertebraten. Statt in 4 Teile, verzweigen sich die Aktin-Filamente nur in zwei Teile, wie es auf dem auf Seite 423 abgebildeten Schema IVa und b gezeigt wird. Diese Auffassung wird noch durch die Beobachtungen von Hanson und Lowy [1963] gestützt, welche bei verschiedenen Invertebratenmuskeln (u.a. bei *Dytiscus* und *Calliphora*) die Aktin-Filamente als fädige Aggregate beschreiben, in denen die globären Einzelmoleküle zu langen Doppelspiralen zusammengelegt sind. Man könnte daraus folgendes ableiten: Die Aktin-Filamente teilen sich an der Insertionsstelle in das Z-Band in ihre beiden die Doppelspirale bildenden Untereinheiten auf, diese werden dann durch Anlagerung von zusätzlichem Material stäbchenförmig verdickt. Die Untereinheiten der Aktin-Filamente würden somit das Grundgerüst für das Z-Band bilden, das infolgedessen nicht auf einer ausschließlich membranösen Grundlage beruhen würde, wie sie von Franzini-Armstrong und Porter angenommen wird. Auch das Schema von Huxley [1963], das auf der Gitterstruktur des Tropomyosinkristalls beruht und aus Beobachtungen an Vertebratenmuskeln abgeleitet wurde, kann für Z-Bänder in Insektenmuskeln nicht zur Anwendung gelangen.

Der Raum zwischen den Filamenten ist mit einer elektronendichten Substanz ausgefüllt; diese kann aber nicht als Membran bezeichnet werden, zumindest nicht in fixiertem Zustand.

Aus dem Schema lassen sich sowohl die Längsschnitt-Bilder, auf denen die Filamente praktisch parallel durch das Z-Band verlaufen,

als auch diejenigen, welche ein Zick-Zackmuster zeigen, erklären: Diese scheinbar verschiedenen Strukturen sind nur durch die Schnitt-Richtung bedingt (Schema III).

Zusammenfassung

Die Ultrastruktur der dorsolongitudinalen Flugmuskeln der Imago von *Antheraea pernyi* wird beschrieben. Nicht oder nur leicht kontrahierte Muskeln weisen Z-, A-, I-, H- und manchmal undeutliche N-Bänder auf; während des Tetanus sind nur noch Z- und A-Bänder vorhanden.

Die Myosin-Filamente enden nicht an der A-, I-Grenze, sondern laufen im I-Band zu einer Spitze aus, wo sie durch verlängerte Brücken mit den Aktinfilamenten in Verbindung stehen und so das N-Band bilden. Im H-Band fehlen die Aktinfilamente und damit auch die Brücken; die Myosinfilamente haben außerdem einen flachrechteckigen Querschnitt.

Die Struktur des Z-Bandes beruht auf einem anderen Prinzip als bei den Vertebraten; dies ist durch die Anordnung der Aktinfilamente im Bereich des Z-Streifens bedingt.

Das T-System kommt durch Invaginationen der Plasmamembran zustande. Es dient auch als Scheide für die Tracheolen.

Summary

The ultrastructure of the dorsolongitudinal flight muscles of the adult moth *Antheraea pernyi* has been studied. Muscles which are not contracted or only slightly so, show Z, A, I, H bands and sometimes indistinct N bands; during tetanus there are only Z and A bands visible.

The myosin filaments do not end at the limit between the A and the I band but taper in the I band, being connected with the actin filament by longer cross-bridges forming the N band. In the H band the actin filaments and their crossbridges are missing. The myosin filaments here are rectangular in cross section.

The arrangement of the actin filaments in the Z region indicates that the structure of the Z band is based on a scheme different from that of the vertebrates.

The transversal system is formed by invagination of the plasma membrane. One of its functions is that of a sheath for the tracheoles.

Résumé

On a étudié l'ultrastructure des muscles dorsolongitudinaux de l'imago du phalène *Antheraea pernyi*. Les muscles qui sont seulement légèrement contractés et ceux qui ne le sont pas montrent des stries Z, A, I, H et quelquefois des stries N indistinctes. Durant le tétanus on ne voit que les stries Z et A.

Les filaments de myosine ne se terminent pas au niveau entre A et I, mais ils s'effilent dans la strie I où leur pointe est reliée par des ponts plus longs avec les filaments d'actine formant ainsi la strie N. Dans la strie H les filaments d'actine ainsi que leurs ponts transversaux manquent. Ici les filaments de myosine sont caractérisés par la forme rectangulaire de la coupe transversale.

La structure de la strie Z montre une disposition des filaments d'actine tout à fait différente de celle des vertébrés.

Le système transversal est formé par des invaginations de la membrane plasmatique. Il sert aussi de gaîne pour les trachéoles.

Literatur

Aronson, J.: Observations on the variations in size of the A-Region of arthropod muscle. J. Cell Biol. *19:* 359–367 (1963).

Franzini-Armstrong, C. and Porter, K. R.: The Z-disc of skeletal muscle fibrils. Z. Zellforsch. *61:* 661–672 (1963). – Sarcolemmal invaginations constituting the T-system in fish-muscle fibers. J. Cell Biol. *22:* 675–696 (1964).

Garamvölgyi, N.: The arrangement of the myofilaments in the insect flight muscle. J. Ultrastruct. Res. *13:* 409–424 (1965).

Hanson, J. and Lowy, J.: The structure of F-actin and of the actin filaments isolated from muscle. J. molec. Biol. *6:* 46–60 (1963).

Huxley, H. E.: The double array of filaments in cross-striated muscle. J. biophys. biochem. Cytol. *3:* 631–648 (1957). – Electron microscope studies on the structure of natural and synthetic protein filaments from striated muscle. J. molec. Biol. *7:* 281–308 (1963). – Evidence for continuity between the central elements or the trials and extracellular space in frog sartorius muscle. Nature, Lond. *202:* 1067–1071 (1964).

Knappeis, G. G. and Carlsen, F.: The ultrastructure of the Z-disc in skeletal muscle. J. Cell Biol. *13:* 323–335 (1962).

Luft, H. G.: Improvements in epoxy resin embedding methods. J. biophys. biochem. Cytol. *9:* 409–414 (1961).

Millonig, G.: A modified procedure for lead staining of thin sections. J. Cell Biol. *11:* 736–739 (1961).

Needham, D. M.: Biochemistry of muscular action; in: Structure and function of muscle, ed. by G. H. Bourne, vol. 11, pp. 55–104 (Academic Press, New York/London 1960).

Nüesch, H.: The morphology of the thorax of *Telea polyphemus* (*Lepidoptera*). J. Morph. *93:* 589–609 (1953).

Page, S. and Huxley, H. E.: Filament lengths in striated muscle. J. Cell Biol. *19:* 369–390 (1963).

Palade, G. E.: A study of fixation for electron microscopy. J. exp. Med. *95:* 285–297 (1952).

Porter, K. R. and Palade, G. E.: Studies on the endoplasmatic reticulum. III. Its form and distribution in striated muscle cells. J. biochem. biophys. Cytol. *3:* 269–300 (1957).

Pringle, H. W. S.: The insect flight (Cambridge Univ. Press, London 1957).

Reynolds, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell Biol. *17:* 208–212 (1963).

Robertson, J. D.: The unit membrane; in: Electron microscopy in anatomy, ed. by J. D. Boyd, F. R. Johnson and J. D. Lever, pp. 74–99 (Williams and Wilkins, Baltimore 1961).

Sabatini, D.D.; Bensch, K. and Barrnett, R.J.: Cytochemistry and electron microscopy. The preservation of cellular ultrastructure and enzymatic activity by aldehyde fixation. J. Cell Biol. *17:* 19–58 (1963).

Shafiq, S.A.: Electron microscopic studies on the indirect flight muscles of *Drosophila melanogaster*. I. Structure of the myofibrils. J. Cell Biol. *17:* 351–362 (1963).

Smith, D.S.: The structure of insect fibrillar flight muscle. J. biophys. biochem. Cytol. *10:* 123–158 (1961a). – The organisation of the flight muscle in a dragonfly, *Aeshna sp.* (*Odonata*). J. biochem. biophys. Cytol. *11:* 119–145 (1961b). – Cytological studies on some insect muscles. Rev. Canad. Biol. *21:* 279–289 (1962). – The structure of flight muscle sarcosomes in the blowfly (*Calliphora*). J. Cell Biol. *19:* 115–138 (1963). – The flight muscles of insects. Sci. Amer. *212:* 77–88 (1965a). – The organisation of flight muscle in an aphid *Megoura viciae* (*Homoptera*). J. Cell Biol. *27:* 379–393 (1965b).

Eingegangen 28. Februar 1967

Adresse der Autorin: Dr. Gertrud Bienz-Isler, Institut für Mikrobiologie und Hygiene, Petersplatz 10, *4000 Basel* (Schweiz)

Acta anat. *70:* 524–553 (1968)

Zoologische Anstalt der Universität Basel
Direktor: Prof. Dr. A. Portmann
und Laboratorium für Elektronenmikroskopie
Leiter: Prof. Dr. R. Schenk

Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Entwicklung der dorsolongitudinalen Flugmuskeln von *Antheraea pernyi* Guer. (*Lepidoptera*)[1]

II. Teil

Gertrud Bienz-Isler

Einleitung

In der Literatur lassen sich zahlreiche lichtmikroskopische Arbeiten über die Muskeldifferenzierung finden; sie betreffen vorwiegend die Entstehung der vielkernigen Faser und der Myofibrillen. Dem gegenüber versuchten in den letzten Jahren vor allem NÜESCH [1962, 1965a und b] und EIGENMANN [1965] an Flugmuskeln von *Saturniidae* die jeweiligen morphologisch feststellbaren Entwicklungszustände mit der Ausbildung der Funktionstüchtigkeit in Beziehung zu setzen.

Im Rahmen dieser Arbeiten erschien es sinnvoll, mit Hilfe der gesteigerten Auflösung des Elektronenmikroskops, am gleichen Objekt die Entwicklung der submikroskopischen Strukturen, an denen sich die Muskelfunktion abspielt, zu verfolgen. Zwar existieren einige elektronenmikroskopische Arbeiten über die Genese der kontraktilen Elemente in Insektenflugmuskeln (AUBER [1962, 1964a und b, 1965], KOSHIHARA *et al.* [1958], SHAFIQ [1963], TAHMISIAN [1964]), jedoch ergaben sie noch kein einheitliches Resultat.

Die vorliegende Arbeit, ausgeführt an den dorsolongitudinalen Flugmuskeln von *Antheraea pernyi* (*Saturniidae*), zeigt die Entwicklung des Muskels während der Puppenzeit, wobei auch die Beziehung der einzelnen Zellorganellen zueinander und ihre vermutliche Rolle in der Entwicklung diskutiert werden sollen.

Material und Methode

(Siehe G. BIENZ-ISLER: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die imaginale Struktur der dorsolongitudinalen Flugmuskeln von *Antheraea pernyi* Guer. [*Lepidoptera*], Acta anat., Vol. 70, pp. 416–433, 1968).

---

[1] Diese Arbeit wurde der philosophisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität Basel als Teil einer Inauguraldissertation zur Erlangung der philosophischen Doktorwürde vorgelegt.

Befunde

1. Bau der Muskelanlage in der Diapausepuppe

Die Anatomie der Anlage der dorsolongitudinalen (dl)-Muskeln im Mesothorax von *Antheraea pernyi* wurde von Eigenmann [1965] beschrieben. Die Form der ca. 6 mm langen und 0,8 mm dicken Anlage ist charakterisiert durch eine leichte Verdickung in der Mitte des Stranges. In dieser Gegend befindet sich auch die Insertionsstelle des Vorderflügelnerves II N1b (Nüesch [1955, 1957] an *Antheraea polyphemus*).

Betrachten wir die Feinstruktur der Muskelanlage, so treffen wir neben Phagozyten vorwiegend zwei Zelltypen, welche oft eng aneinanderliegen. Der eine Zelltyp ist langgestreckt und mit Kernreihen versehen, der andere Typ wesentlich kleiner, spindelförmig, einkernig und sehr stark mit Ribosomen durchsetzt. Die Berührungszone der Zellmembranen ist stellenweise zu Desmosomen verdichtet, die bis zu 0,86 μ lang sind (Abb. 1). Möglicherweise werden die kleineren Zellen, nach einzelnen Beobachtungen zu schließen, später durch Verschmelzung in die Muskelfaser aufgenommen.

In späteren Entwicklungsstadien treten Myofibrillen in den langgestreckten Zellen auf; folglich sind diese als die eigentlichen Muskelanlagezellen oder Myoblasten zu bezeichnen. Sie liegen parallel zur Längsachse der Muskelanlage, ihr Durchmesser beträgt 7–10 μ, ihre Länge kann in den Schnitten jedoch nicht genau bestimmt werden. Besonders typisch sind die Kernreihen, die mehrere Kerne umfassen; diese sind durch eine bis zwei ausgeprägte, 1,2 μ große Nukleolen charakterisiert, deren dunkler Cortex einen weniger dichten Innen-

---

Abkürzungen

A = A-Band
B = Basalmembran
Cy = Cytolysom
D = Desmosom
Enc = Endocuticula (bzw. Epicuticula)
ER = Endoplasmatisches Retikulum
Exc = Exocuticula
G = Golgiapparat
Gr = Grenzmembran zwischen Tracheolenintima und Trf
H = H-Band
I = I-Band
K = Kern
M = Mitochondrium
Mt = Microtubuli
N = N-Band
Nu = Nucleolus
Pbr = Plasmabrücke
Pl = Plasmamembran
PlT = Plasmamembran des Trf
Ps = Polysom
R = Ribosomen
T = T-System
Tr = Tracheole
Trf = Tracheoblastenfortsatz
Z = Z-Band

raum umschließt (Abb. 1). Um den Golgiapparat gruppieren sich verschiedene strukturierte Körper, die den von Stoekenius [1959] beschriebenen Zytolysomen gleichen. Hay [1960] fand ähnliche Körper in regenerierenden Muskeln von *Amblystoma* und deutete sie als Abbauformen des endoplasmatischen Retikulums.

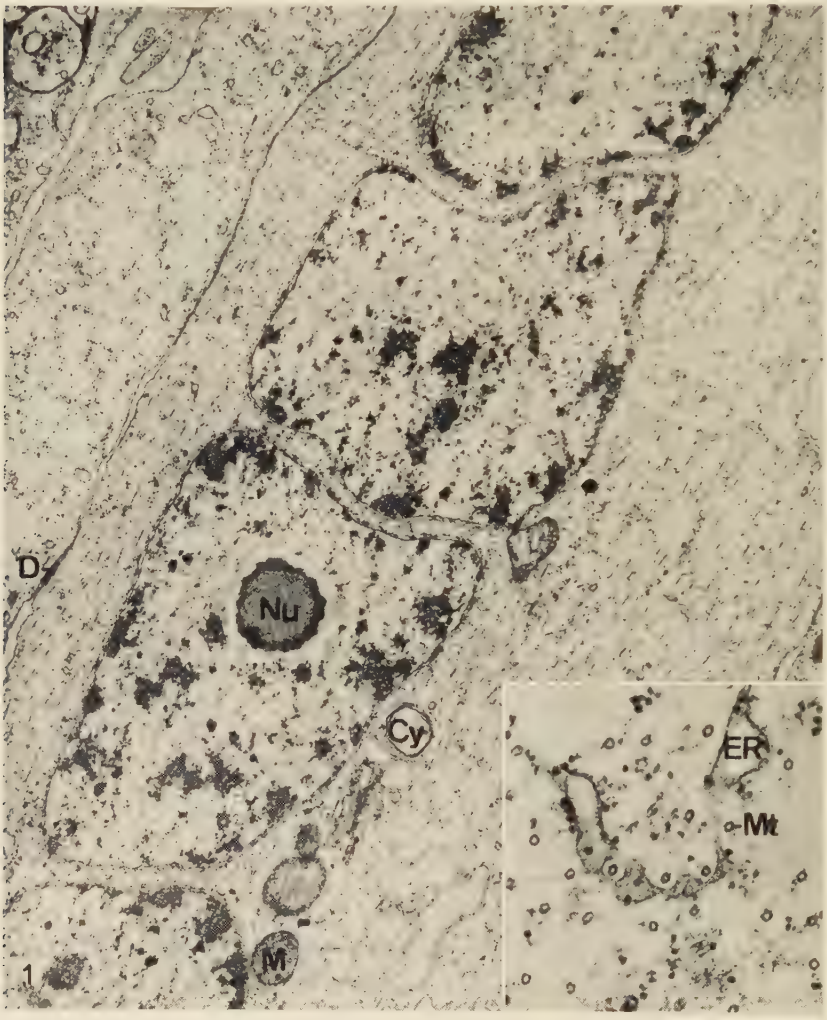


Abb. 1. Längsschnitt durch Muskelanlage in der Diapausepuppe. Die Myoblastenkerne sind in Reihen angeordnet. Direkt neben einem Kern liegt ein Golgiapparat mit einem Zytolysom. Vergr. ×12000. – *Einsatzbild:* Ausschnitt aus einem Querschnittbild. Die Microtubuli erscheinen als ausgeprägte Kreise; einige davon sind kreisförmig von endoplasmatischem Retikulum umgeben. Vergr. ×45000.

Mitochondrien sind nur selten anzutreffen. Zum Teil entspricht ihr Aufbau dem von Mitochondrien in späteren Stadien; ihre Struktur scheint intakt. Besonders in Kernnähe liegen aber Mitochondrien, deren diffuse Innenstruktur auf Abbau hinweist (vgl. S.534).

Ziemlich regelmäßig in der Zelle verteilt und parallel zu ihrer Längsachse verlaufen Microtubuli (Behnke [1964], de Thé [1964]). Diese sehr feinen Röhren sind in Längsschnitten als zwei parallele, in einem Abstand von ca. 240 Å verlaufende Linien erkennbar. Im Querschnitt zeigen sie sich als kreisrunde Ringe mit einem Durchmesser von 230–280 Å; die Dicke der Wand variiert zwischen 45 und 75 Å. An einigen Stellen werden sie von Ausläufern größerer Vesikel umschlossen, so daß sie im Querschnitt in einem Hof mit einem Durchmesser von 400–1400 Å liegen (Abb. 1, Einsatzbild). Die Microtubuli stehen in keiner direkten Beziehung zu zytoplasmatischen Membranen.

Myofilamente sind in Myoblasten von verschiedenen Autoren beschrieben worden (Bergman [1962], Hay [1963], Shafig [1963]). Ähnliche Strukturen können im Material von *Antheraea pernyi* auch gefunden werden, doch handelt es sich hier nicht um neu gebildete Filamentstücke, sondern eher um Überreste aus der larvalen Muskulatur.

2. Entwicklung der Flugmuskulatur

Im folgenden soll nun die Entwicklung der imaginalen Muskelfaser aus der frühpupalen Anlage geschildert werden. Zuerst wird die Bildung der Organellen beschrieben, und abschließend folgt eine Schilderung der Entwicklung der Faser als Ganzes.

Die Muskelanlage ist in der Mitte leicht verdickt und entwicklungsmäßig weiter fortgeschritten als in übrigen Regionen (vgl. S. 525) Dieser Vorsprung wird nur langsam ausgeglichen, und erst am 7.–8. Tag können wir die Entwicklungsstufen der verschiedenen Regionen als einigermaßen gleichwertig ansehen. Um vergleichbare Resultate zu erhalten, wurden von früheren Stadien nur Schnitte aus der mittleren Region des Muskelbündels verwendet. Zu Vergleichszwecken wurden auch die seitlichen Partien untersucht.

A. Filamente

Nach biochemischen und elektronenmikroskopischen Erkenntnissen der letzten Jahre sind es Ribosomen, resp. Polysomen, die in der Proteinsynthese (Wettstein *et al.* [1963], Gierer [1963] u.a.), wie auch in der Muskelproteinsynthese (Bergman [1962], Cedergren

und Harary [1964], Hay [1963], Heuson-Stiennon [1964, 1965], Waddington und Perry [1963], Strohmann *et al.* [1964]) eine entscheidende Rolle spielen. Es liegt nahe, anzunehmen, daß die Genese der Filamente, die am 8. Tag richtig in Gang kommt und vom 9. Tag an mit offenbar hoher Geschwindigkeit abläuft, im Fall von *Antheraea pernyi* ebenfalls ribosomal erfolgt.

α) Beobachtungen

Aktinfilamente: Vorwiegend am 9. Entwicklungstag (aber auch am 8. und am 10. Tag) finden sich ungeordnet im Plasma verteilt feine Fäden (Abb. 2). In der Nähe von Polysomen liegen sie etwas angereichert. Diese feinen Fäden sind indessen kaum mit fertigen Aktinfilamenten identisch; sie sind etwas dünner und lockerer gebaut und im Gegensatz zu den adulten Aktinfilamenten nicht gerade gestreckt. Sie erreichen z.T. eine Länge von 0,6–1 μ.

Myosinfilamente: Neben den oben beschriebenen langen dünnen Fäden ist eine unscharf begrenzte Fasersubstanz mit feinen kurzen Fäden zu erkennen. Diese Substanz ist häufig in der Umgebung von

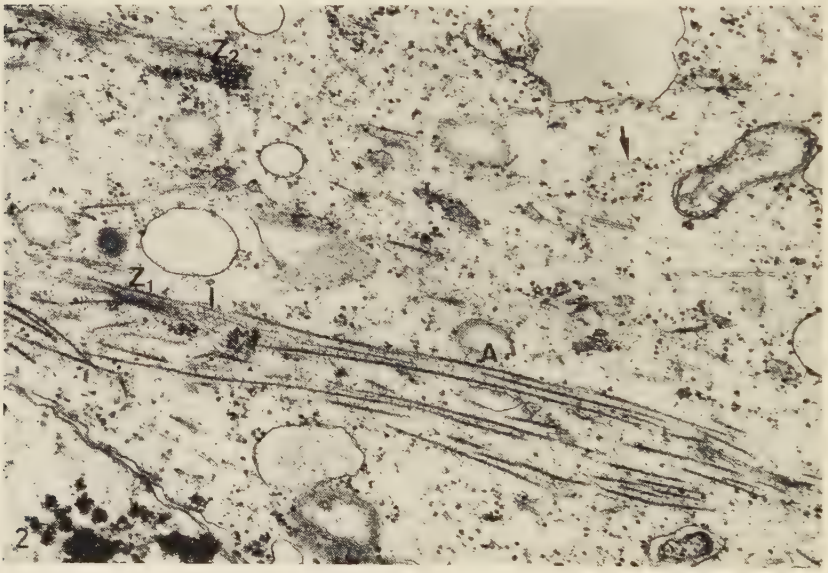


Abb. 2 und 3. Längsschnitte durch Muskelfasern vom 9.–10. Tag.
Abb. 2. Gruppen von Polysomen halten sich in der Nähe von in Bildung begriffenen Fibrillen auf. Daneben sind unregelmäßig im Plasma verteilt feine Fäden zu erkennen (Pfeil). Das neue Z-Band (Z_2) entsteht auf gleicher Höhe wie das schon vorhandene (Z_1). Vergr. $\times 25\,500$.

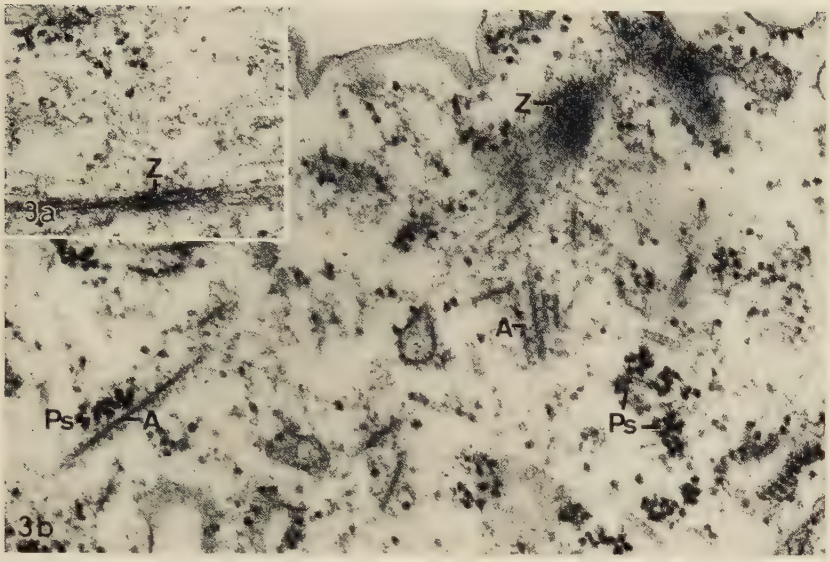


Abb. 3 a und b. – a) Faserige Substanz liegt hier zwischen zwei Z-Bändern; sie scheint an der Fibrillenbildung beteiligt zu sein. Vergr. ×51000. – b) Einzeln stehende, wahrscheinlich neugebildete Myosinfilamente sind von faserigem Material umgeben. Polysomen liegen gruppenweise an verschiedenen Stellen im Plasma. Vergr. ×51000.

Polysomengruppen, oft aber auch in nächster Nähe von in Bildung befindlichen Fibrillen (Abb. 2 und 3 a) anzutreffen. Einzeln liegende wahrscheinlich neugebildete Myosinfilamente sind von diesem faserigen Material umgeben (Abb. 3 a). Solche Filamente sind noch nicht so kompakt gebaut wie später.

b) Interpretation

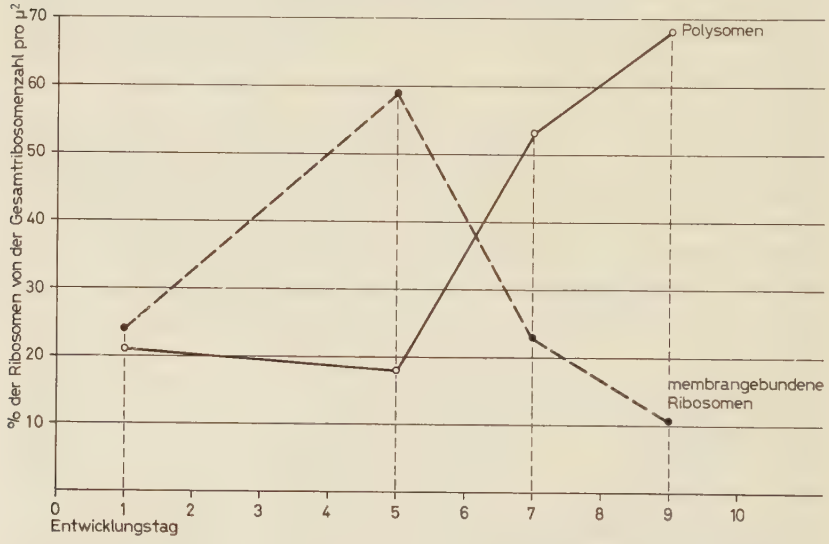
Diese Beobachtungen können so gedeutet werden, daß an den stark vermehrten und z.T. angehäuften Polysomen eine feinfaserige Vorstufe der Filamente gebildet wird. Bei den langfädigen Teilchen dürfte es sich um Aktinvorstufen handeln, bei den kurzfaserigen um Myosinvorstufen. Durch Zusammenlagerung dieser Vorstufen entstehen dann die Aktin- resp. Myosinfilamente (siehe auch S. 546 und 547).

B. Polysomen

Der größte Teil der Polysomen hält sich vom 8.–10. Entwicklungstag gruppenweise in der Nähe oder zwischen den in Bildung begriffenen Fibrillen auf. Neben häufchenförmigen Polysomen kommen besonders am 9. Tag auch Polysomen mit gesetzmäßiger Anordnung der

Ribosomen in Form von Helices vor, die bis zu dreißig Ribosomen enthalten, ferner Reihen und hie und da auch Doppelreihen.

Bei quantitativer Erfassung der Ribosomen (Schema I)[2] an einigen Entwicklungstagen, beginnend bei der Diapausepuppe, zeigt sich, daß die Anzahl der membrangebundenen Ribosomen, die in der Diapausepuppe ca. 25 % der gesamten Ribosomenzahl ausmachen, bis zum 5. Tag auf mehr als das Doppelte ansteigt und nachher wieder auf ca. 11 % (9. Tag) absinkt. Da die Zahl der Polysomen in der gleichen Zeit auf das Dreifache ansteigt, laufen die Kurven vom 4.–9. Tag entgegengesetzt. Daraus möchte ich schließen, daß die Polysomen an den Vesikeln des endoplasmatischen Retikulums gebildet und dann zwischen dem 5. und 9. Tag abgelöst werden. Besonders Bilder vom 7. Tag zeigen in der Umgebung von stellenweise mit Ribosomen besetzten Vesikeln auffallend viele Polysomen (Abb. 4). Einige scheinen sich gerade von der Unterlage, der Vesikelmembran, zu lösen.



Schema I. Die beiden Kurven zeigen den prozentualen Anteil der membrangebundenen Ribosomen und der Polysomen an der Gesamtribosomenzahl (Abszisse) im Verlauf der ersten neun Entwicklungstage (Ordinate).

[2] Pro Entwicklungstag wurden auf 4–5 Bilder verteilt 100–200 μ^2 ausgezählt. Die Polysomen und die membrangebundenen Ribosomen wurden separat gezählt. In der Kurve (Schema I) wurde dann ihr jeweiliger Anteil an der Gesamtribosomenzahl in Prozent angegeben, da die Gesamtribosomenzahl ein veränderlicher Faktor ist, der mit der Schnittdicke, die ja nicht mit hinreichender Genauigkeit reproduzierbar ist, variiert.

C. Endoplasmatisches Retikulum (= ER)

a) Beobachtungen

In der Diapausepuppe ist das endoplasmatische Retikulum erst spärlich ausgebildet. Es erscheint in zwei morphologischen Formen: Erstens als größere, stellenweise mit Ribosomen besetzte Vakuolen, die sehr wahrscheinlich Aufblähungen des ER darstellen, zweitens als dicht mit Ribosomen besetzte Schläuche (Ergastoplasma), die durch ihre Lage an der Zellperipherie oder in der Nähe des Kerns charakterisiert sind.

Der Verlauf der Entwicklung des ER wird vorwiegend durch Zunahme des Ergastoplasmas und der größeren Vakuolen bestimmt. Das Ergastoplasma bildet vom 3. Tag an eigenartige Formen, so daß Innenhöfe mit Ribosomen entstehen, die mit dem Plasma kommunizieren. Solche Formen sind häufig in Kernnähe in Verbindung mit dem Golgiapparat zu treffen. Die größte Verbreitung finden sie am 7. Tag, haben dann allerdings eine leicht veränderte Form: Sie sind stellenweise stark aufgebläht, und sind zum Teil mit einer etwas elektronendichteren Substanz gefüllt (Abb. 4). Diese Merkmale sind am 8. und 9. Tag an verschiedenen Stellen noch besser ausgeprägt.

b) Interpretation

Das Ergastoplasma vergrößert seine Oberfläche in den ersten sieben Tagen durch Bildung von ausgedehnten Schläuchen und Vakuolen. Auf diese Weise wird das Bindungsvermögen für Ribosomen entsprechend größer. Zwischen dem 5. und 9. Tag lösen sich dann die Ribosomen als Polysomen ab, was die gleichzeitige Abnahme der membrangebundenen Ribosomen bewirkt.

D. T-System

Die membranösen Strukturen des Muskels wurden von Smith [1961 a und b] an Flugmuskeln von Aeschna und Tenebrio, von Franzini-Armstrong und Porter [1964] an Fischmuskeln und von Huxley [1964] an Froschmuskeln erneut untersucht. Diese Autoren unterscheiden zwischen dem endoplasmatischen Retikulum und einem transversalen Röhrensystem, dem T-System, das durch Einstülpung der Plasmamembran entstanden ist.

Bei *Antheraea pernyi* ist die Entstehung dieses Doppelsystems vom 9. Tag an zu beobachten. In einem gleichbleibenden Abstand von 170–180 Å legt sich ein mit etwas dichterem Material gefülltes Bläs-

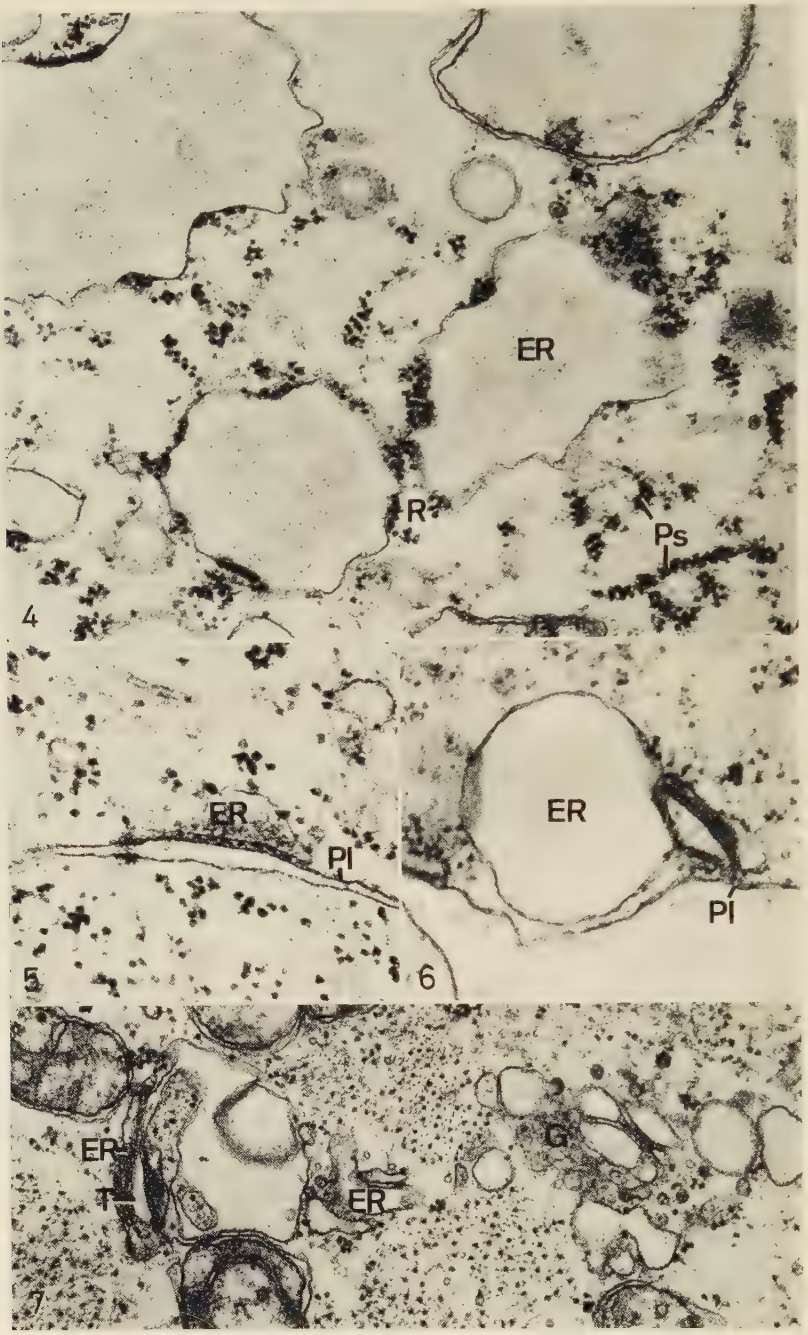


Abb. 4. 7. Entwicklungstag: Ablösung der Polysomen von den Vesikeln des endoplasmatischen Retikulums. Vergr. ×42000.

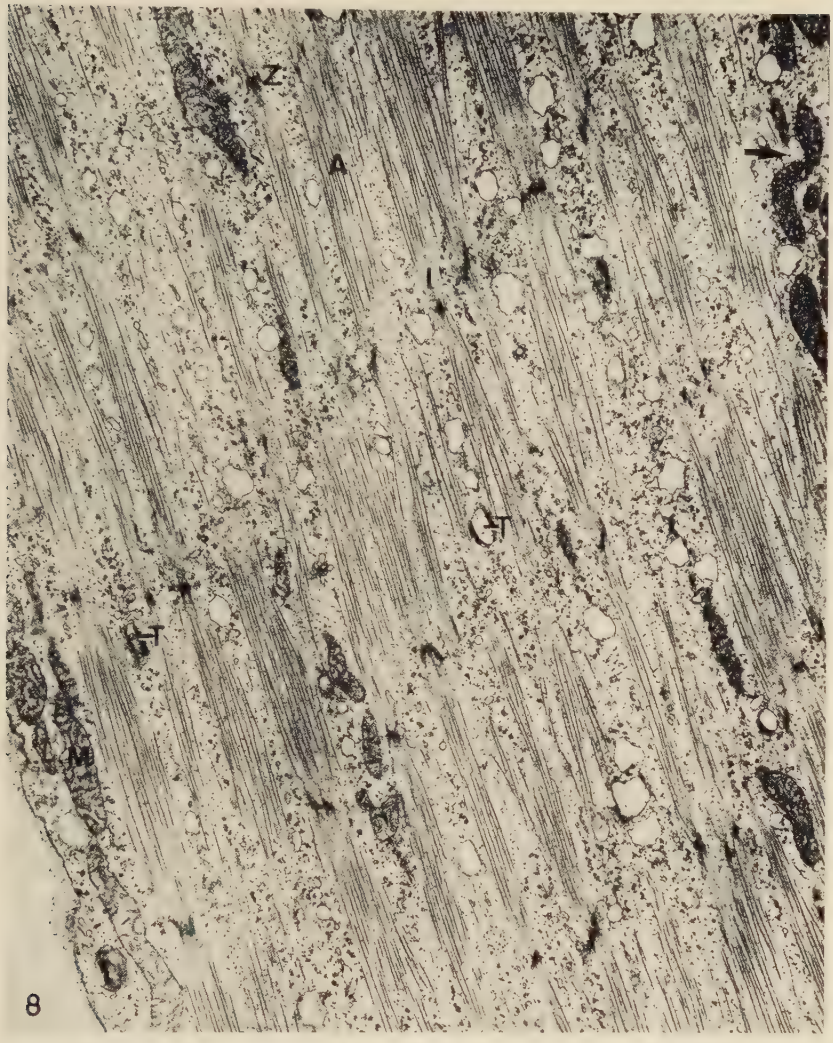


Abb. 5–7. Entstehung des T-Systems und der Triaden.

Abb. 5. 3. Tag: Anlagerung eines Bläschens des endoplasmatischen Retikulums an die Plasmamembran; der Zwischenraum zeigt die charakteristische Struktur, wie sie bei Triaden vorkommt. Vergr. ×56000.

Abb. 6. 9.–10. Tag: Das Plasmalemm wird mitsamt den daranhängenden Blasen des endoplasmatischen Retikulums eingestülpt. Vergr. ×40000.

Abb. 7. 11. Tag: Vesikel des endoplasmatischen Retikulums lagern sich an eine Sarkolemmröhre an. Vergr. ×35000.

Abb. 8. Übersicht eines Längsschnittes am 11. Entwicklungstag. Erst wenige Triaden sind richtig plaziert. Auf der Höhe der Z-Bänder haben sich ER-Vesikel angesammelt. Einzelne Mitochondrien beginnen sich zu biegen (Pfeil). Vergr. ×9000.

chen des ER, das meist noch mit größeren Vakuolen in Verbindung steht, an die Plasmamembran an. Der Zwischenraum zwischen den beiden Membranen ist durch eine besondere Struktur gekennzeichnet, die für eine enge desmosomenartige Verbindung spricht und auch für die Triaden im adulten Muskel typisch ist. Zwar sind diese an die Plasmamembran angelagerten ER-Bläschen schon am 3. Tag (Abb. 5) zu finden; sie treten jedoch erst am 9. Tag vermehrt auf. Zu diesem Zeitpunkt beginnt sich die Plasmamembran ins Zellinnere einzustülpen und wächst mitsamt den Bläschen und den daranhängenden größeren Vakuolen nach innen (Abb. 6). Mit fortschreitendem Einwachsen werden die Plasmamembranschläuche ständig von weiteren Vakuolen des ER umlagert. Einzelne Bilder, z.B. Abb. 7, weisen darauf hin, daß diese ER-Vesikel im Zusammenhang mit dem Golgiapparat entstehen. Am 11. Tag ist wohl die Plasmamembranröhre an gewissen Stellen bereits morphologisch mit den Bläschen zusammen zu einer Triade ausgebildet. Da aber die Myofibrille noch wenig entwikkelt ist, entspricht die Verteilung der Triaden noch nicht dem adulten Zustand (Abb. 8).

E. Mitochondrien

a) Schicksal der larvalen Mitochondrien

Erwartungsgemäß befinden sich neben den restlichen Filamenten in dem aus der Larvalmuskulatur stammenden Plasma (Eigenmann [1965]) einige wenige larvale Mitochondrien. Ihre Form ist langgestreckt und meist schlank; sie weisen einen Durchmesser von 0,22–0,47 μ auf, und ihre Länge wurde bis zu 3,5 μ gemessen. Die Cristae sind ähnlich angeordnet wie diejenigen der Mitochondrien in adulten Tieren, sind aber nicht so dicht gepackt.

Nur ein kleiner Teil der larvalen Mitochondrien wird offenbar in die imaginale Muskelfaser übernommen: Während ein Teil intakt bleibt, zeigen andere schon in der Diapausepuppe Abbauerscheinungen. Diese können in eine Reihe mit zunehmender Veränderung geordnet werden. Da die einzelnen Stadien z.T. gleichzeitig vorhanden sind, bleibt der so postulierte Verlauf allerdings hypothetisch.

Zuerst quellen diese Mitochondrien unter gleichzeitiger Verkürzung auf. Diese Formen sind ausschließlich in der Nähe des Kerns zu treffen. Der nächste Schritt des Abbaues besteht darin, daß die Matrix dichter und grobkörnig wird, währenddem sich an den Cristae eine beginnende Auflösung bemerkbar macht (Abb. 9 a). Ein weiteres Ab-

baustadium ist ein grauer homogener Fleck, der mit einer grobgranulären Masse angefüllt ist. Da diese Körper noch stellenweise eine Doppelmembran besitzen, können sie noch als Mitochondrien angesprochen werden (Abb. 9b). In diesem Zustand sind nur wenige Mitochondrien in der Diapausepuppe zu beobachten. In den ersten Entwicklungstagen sind alle Abbaustufen zu treffen; am 5. Tag können dann nur noch einzelne Mitochondrien in fortgeschrittenem Abbaustadium gefunden werden. Zuletzt scheinen die von innen her aufgelösten Mitochondrien von Zytolysomen aufgenommen zu werden, in denen sie neben anderen Zellabbauprodukten noch gänzlich abgebaut werden (Abb. 9c).

b) Vermehrung und Wachstum der Mitochondrien

Am 5. Tag zeigen einige Mitochondrien leere Auswüchse, die von einer Doppelmembran begrenzt sind (Abb. 10a). Sie sind wahrscheinlich durch Ausstülpung der Außenmembranen entstanden. Durch Abschnürung der inneren Membran sind zwei Innenräume gebildet worden, die von einer gemeinsamen Außenmembran umgeben sind. Der Anhang wird nun durch Bildung von Cristae und Verdichtung der Matrix aufgefüllt, so daß Doppelmitochondrien entstehen, wie sie auf der Abb. 10b am 10. Tag zu sehen sind. In diesem Fall ist anzunehmen, daß durch nachfolgende Abschnürung eine Mitochondrienvermehrung erfolgt.

Am 11. Tag beginnen sich die Mitochondrien quer zur Längsachse der Faser auszudehnen. Dies geschieht einesteils durch Biegung (Abb. 8), anderenteils scheint bei diesem Prozeß auch der oben beschriebene Knospungsvorgang eine Rolle zu spielen (Abb. 10c), wobei die Abschnürung wegfällt. Auf diese Weise nimmt der Querschnitt der Mitochondrien, der in früheren Stadien eher rundlich war, am 14. und 15. Tag (Abb. 12f) immer vielfältigere Formen an. Zugleich wird so der interfibrilläre Raum immer dichter ausgefüllt. Am folgenden Tag (16. Tag) entspricht die Verteilung der Mitochondrien bereits derjenigen im adulten Muskel, hingegen erreicht ihre Ausdehnung quer zur Faserlängsachse und die Dichte der Cristae noch nicht das Ausmaß wie im adulten Muskel.

c) Bildung der neuen Mitochondrien

Am 4. Tag treten Formen auf, die sich als eine Neubildung von Mitochondrien deuten lassen. An diesem Entwicklungstag sind vermehrt

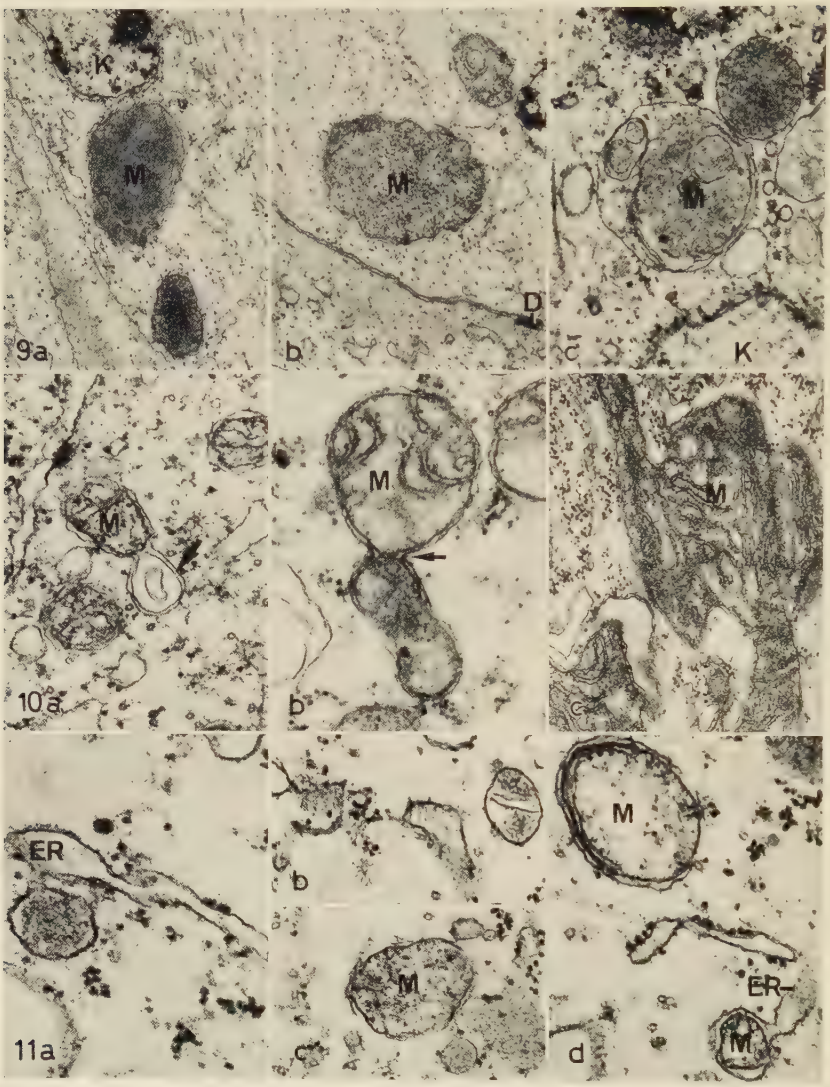


Abb. *9a–c*. Verschiedene Abbauformen von larvalen Mitochondrien. – a) Die Matrix ist dicht und grobkörnig; die Cristae sind in Auflösung (1. Entwicklungstag). Vergr. ×16000. – b) Das Mitochrondrium ist aufgequollen und die Cristae sind schon vollständig aufgelöst (Diapausepuppe). Vergr. ×16000. – c) Ein fast abgebautes Mitochondrium ist von einem Zytolysom aufgenommen worden (1. Entwicklungstag). Vergr. ×16000.

Abb. 10a–c. Vermehrung und Wachstum der Mitochondrien. – a) Einzelne Mitochondrien weisen leere Auswüchse auf, die von einer Doppelmembran begrenzt sind (Pfeil) (5. Tag). Vergr. ×35000. – b) Dieses Doppelmitochondrium ist wahrscheinlich durch Knospung entstanden (10. Tag). Vergr. ×35000. – c) Die Mitochondrien

runde bis ovale Körper zu treffen; sie sind durch eine Membran begrenzt und weisen einen etwas elektronendichteren Inhalt auf (Abb. 11b und c). Ihre Entstehung ist schwer nachzuweisen. Die Abb. 11a erweckt den Eindruck, daß diese Vesikel durch Abschnürung von Ergastoplasmazisternen entstehen.

Viele Mitochondrien mit fertigen Doppelmembranen stehen in Verbindung mit Vakuolen des ER, wobei die äußere Mitochondrienmembran zugleich die Begrenzung der Vakuole darstellt (Abb. 11d).

Die Innenstruktur der jungen Mitochondrien ist durch vereinzelte Cristae charakterisiert, die durch Einstülpung der inneren Membran entstehen (Abb. 11d). Auf der Innenseite der eingestülpten Membran, also in der inneren Matrix, sitzen Ribosomen (André und Marinozzi [1965]), die einen kleineren Durchmesser als die zytoplasmatischen Ribosomen aufweisen (Abb. 11c und d).

F. Tracheolen

Etwa am 13. Tag beginnen zytoplasmatische Fortsätze der Tracheenendzellen in die Faser einzudringen (Abb. 12a). Ihr Weg ins Faserinnere ist bereits, in Form der Sarkolemmröhren (T-System), die die ganze Faser durchziehen, vorbereitet; somit bleiben die Tracheolen im extrazellulären Raum. Die von den Fortsätzen benutzten Sarkolemmschläuche werden durch deren Eindringen um ungefähr das Fünffache erweitert. Der auf Abb. 12c abgebildete Plasmaausläufer weist verschiedene, auch in andern Zellen vorhandene Organellen auf: Mitochondrien, endoplasmatisches Retikulum, Ribosomen, Microtubuli und außerdem mit einer dichten Substanz gefüllte Vakuolen. Dazwischen liegt ein kleines Lumen, das durch eine Membran vom Zytoplasmamantel des Fortsatzes abgegrenzt ist. Diese Mem-

---

dehnen sich durch Biegung und Knospung senkrecht zur Längsachse der Zelle aus (14. Tag). Vergr. ×24000.

Abb. 11a–d. Mutmaßlicher Entwicklungsverlauf der Mitochondrien am 4. Tag. – a) Mögliche Entstehung eines Mitochondrienvorläufers durch Abschnürung eines Ergastoplasmateils. Vergr. ×52000. – b) und c) Währenddem der Körper auf b) noch nicht mit Sicherheit als Mitochondrienvorläufer angesprochen werden kann, handelt es sich auf c) mit großer Wahrscheinlichkeit um ein junges Mitochondrium, dessen Außenmembran erst teilweise und dessen Cristae überhaupt noch nicht vorhanden sind. Vergr. ×36000. – d) Die Außenmembran des jungen Mitochondriums rechts unten steht in Verbindung mit der ER-Membran. Die ersten Cristae entstehen durch Einstülpung der Innenmembran. Vergr. ×36000.

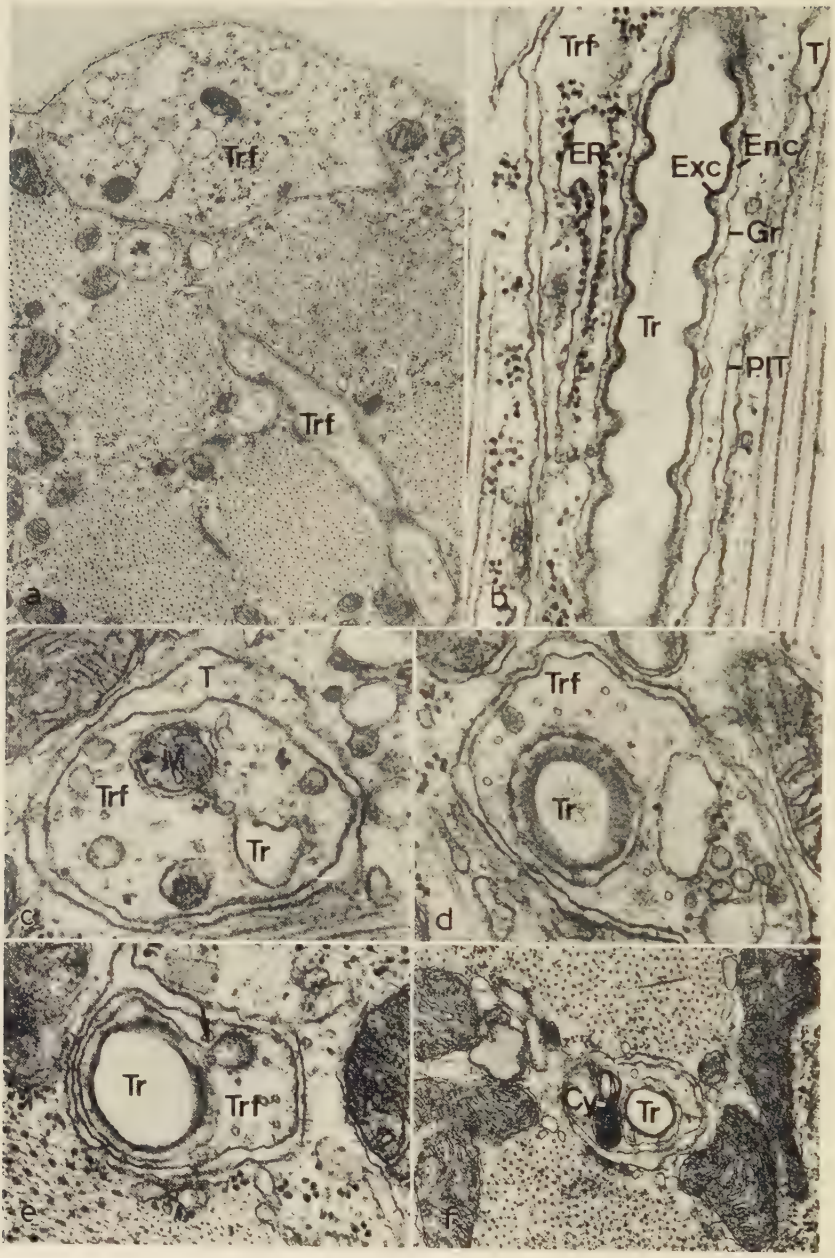


Abb. 12 a–f. Bildung der Tracheolen. – a) Am 13. Entwicklungstag dringen Fortsätze der Tracheenendzelle in die Plasmalemmröhren ein. Vergr. × 11 400. – b) Längsschnitt durch einen Tracheoblastenfortsatz am 14. Tag. Er weist ein gut entwickeltes ribosomenbesetztes ER auf; die Bildung der Tracheolenintima ist schon weit fortge-

bran ist zusätzlich mit einer äußerst dünnen, aber bereits formgebenden Chitinschicht belegt, welche als beginnende Bildung der Exocuticula gedeutet werden kann. Der Zytoplasmamantel selbst wird durch das Plasmalemm des Tracheoblasten abgegrenzt. Auf Abbildungen vom 14. Tag (Abb. 12 b, d) liegen verschiedene Einzelheiten vor, die als Merkmale einer aktiven Bildung der Tracheolenintima durch den Tracheoblastenausläufer gewertet werden können: Erstens hat der Durchmesser des Plasmafortsatzes seit dem vorhergehenden Tag um zirka das Doppelte, d.h. von 0,5–0,6 μ auf 1,0–1,1 μ zugenommen; gleichzeitig hat sich das ribosomenbesetzte endoplasmatische Retikulum stärker entwickelt. Zweitens hat sich auch das Lumen um das Zweifache erweitert. Die Exocuticula, die jetzt deutlich als solche erkennbar ist und eine Dicke von 210 Å erreicht hat, hat sich durch die Bildung der Epicuticula um ungefähr 350 Å von der Grenzmembran gelöst. Auf der Abb. 12 e, die am 15. Tag aufgenommen wurde, ist zu sehen, wie eine der oben beschriebenen Vakuolen ihren Inhalt in den epikutikulären Bereich entleert. Während nun die chitinöse Tracheole immer kräftiger wird, wird die umgebende Zelle erheblich dünner. Schon am 15. Tag zeigt der Plasmafortsatz der Tracheenendzelle im Durchmesser eine Reduktion von 1,1 μ auf 0,5 μ, ferner sind auch ab und zu Zytolysomen vorhanden, die ebenfalls auf Abbauvorgänge hinweisen (Abb. 12 f). Am 16. Tag ist die Reduktion noch weiter fortgeschritten; zwar beträgt der Gesamtquerschnitt durch den Tacheoblastenausläufer noch 0,4 μ, doch hat die Epicuticula an Dicke zugenommen, so daß der periphere Zytoplasmamantel die Tracheole wie eine dünne Hülle mit ca. 800 Å Wanddicke umgibt. Die Mitochondrien und das Ergastoplasma sind abgebaut; nur noch vereinzelte Ribosomen und einige wenige Microtubuli sind vorhanden. Die Reduktion geht so weit, daß die Tracheole im adulten Muskel nur noch von einer Doppelmembran umgeben ist. Damit wird ein enger Kontakt des sauerstofftransportierenden Systems zu den Oxydationszentren, den Mitochondrien, hergestellt.

---

schritten. Vergr. ×46500. – c) Tracheenendzellenausläufer mit verschiedenen Organellen am 13.-14. Tag. Die Bildung der Tracheole hat bereits begonnen. Vergr. ×46500. – d) Querschnitt durch einen Tracheoblastenfortsatz am 14. Tag. Vergr. ×46500.– e) und f) Querschnitt durch einen Tracheoblastenfortsatz am 15. Tag. – e) Entleerung einer Vakuole in die Endocuticula (Pfeil). Vergr. ×46500. – f) Der Plasmafortsatz der Tracheenendzelle wird reduziert; in dieser Richtung weisen auch Zytolysomen. Vergr. ×19000.

G. Gruppierung der einzelnen Organellen zur imaginalen Muskelstruktur

In den vorangehenden Kapiteln wurde die Entstehung oder Umwandlung der verschiedenen Organellen geschildert, doch blieb dabei unbeachtet, wie sich die einzelnen Komponenten zu einem sinnvoll gebauten Ganzen ordnen. Wie aber aus dem Durcheinander von Myofilamenten, Microtubuli, Mitochondrien und ER ein wohlgeordneter, funktionstüchtiger Muskel entsteht, ist auf Grund von rein morphologischen Untersuchungen natürlich schwer zu entscheiden.

a) Fibrillenbildung

Verschiedene morphogenetische Prinzipien scheinen für die Entstehung der Fibrillen verantwortlich zu sein:

1. Bald nach dem Erscheinen der ersten Filamente macht sich an verschiedenen Punkten, unregelmäßig über den ganzen Zellquerschnitt verteilt, ausgenommen in der Zell-Peripherie, eine intensivierte Filamentgenese bemerkbar. Es scheint, daß sich im Plasma Zentren für die Myofibrillenbildung gebildet haben.

2. Die neugebildeten Myofilamente sind, wie schon erwähnt, von faserigem Material umgeben. Stellenweise ist diese Substanz zu Fortsätzen verdichtet, die noch nicht sehr regelmäßige Brücken darstellen. Obwohl sie noch unregelmäßig sind, scheinen sie (Abb. 13) als ordnendes Element zu wirken: zwei Filamente auf diesem Bild (Abb. 13), ein Myosin- und ein Aktinfilament, sind auf einer kurzen Strecke durch einzelne Brücken verbunden, obschon sie noch einen Abstand von ca. 340 Å, gegenüber dem späteren von 260 Å, einhalten und auch noch nicht auf der ganzen Länge parallel laufen. Man gewinnt aus solchen Bildern den Eindruck, daß diese Brücken durch ihre Affinität zueinander die gegenseitige Anziehung der bündelweise gebildeten Filamente auf den richtigen Abstand bewirken. Auffällig ist, daß die

---

Abb. 13–19. Bildung der Fibrillen.

Abb. 13. Die Filamente werden gegenseitig durch Brücken angezogen (Pfeil) (9. Tag). Vergr. ×60000.

Abb. 14. Das Querschnittbild zeigt, daß ein regelmäßiger Abstand zwischen den Filamenten meistens erst in einer Ebene vorliegt (9. Tag). Vergr. ×42000.

Abb. 15. Das Z-Band weist im Querschnitt einige helle Höfe auf, die als eingebaute Microtubuli (Pfeile) zu deuten sind (9. Tag). Vergr. ×31000.

Abb. 16. Das längs getroffene Z-Band rechts unten steht in enger Verbindung mit einem Microtubulus (9. Tag). Vergr. ×54000.

Abb. 17. Ausschnitt aus einem Querschnittbild, aufgenommen am 11. Tag: Die Myofibrillen sind noch nicht eindeutig abgegrenzt. Vergr. ×12000.

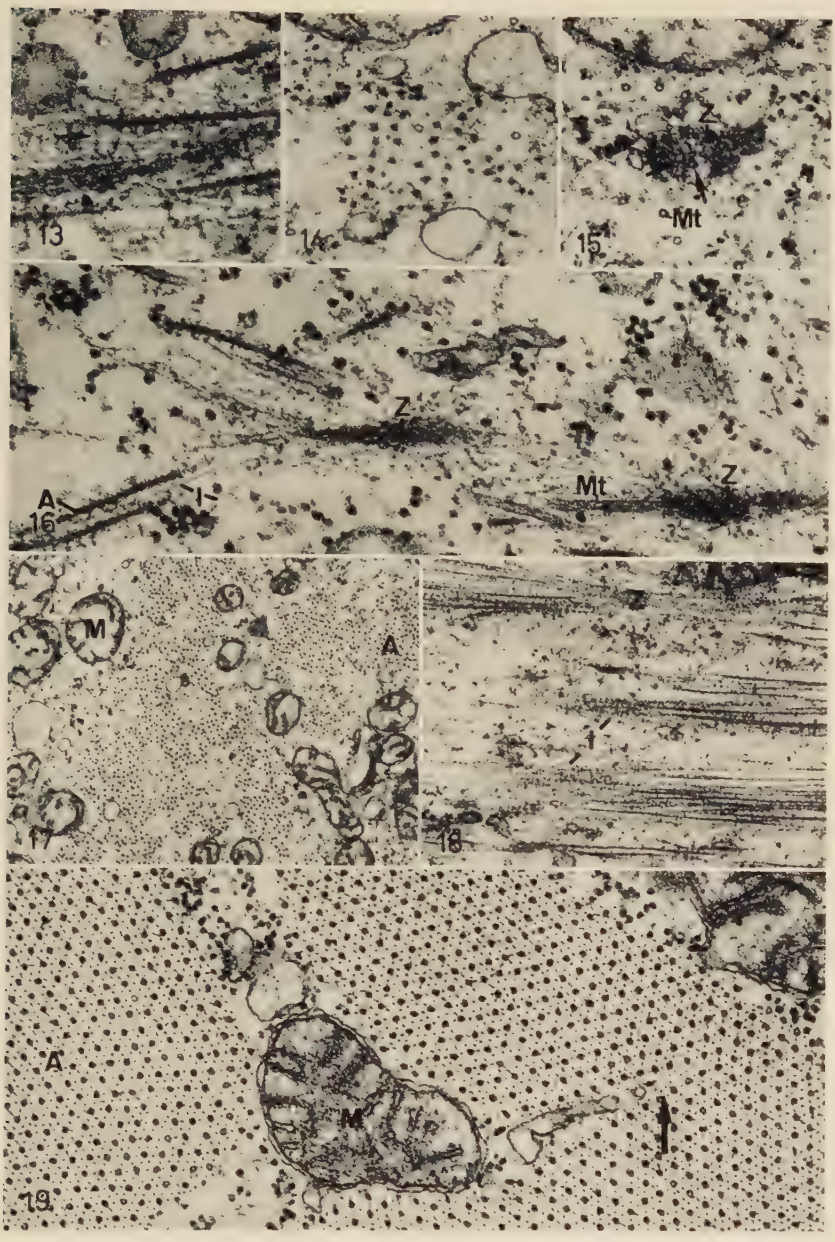


Abb. 18. Im Längsschnitt zeigt das I-Band am 11. Tag Verdickungen der I-Filamente in periodischen Abständen von 400 Å. Vergr. ×18000.

Abb. 19. Die Brücken zwischen den Filamenten werden durch endoplasmatisches Retikulum aufgespalten (Pfeil) (16. Tag). Vergr. ×42000.

Anziehung vorerst einmal in einer Ebene stattfindet, denn im Querschnitt (Abb. 14) liegen einzelne als dunkle Punkte erscheinende Myosinfilamente öfters in gleichen Abständen in einer Reihe nebeneinander, während eine nächste Reihe weiter davon entfernt ist, als es im ausdifferenzierten Muskel der Fall ist.

3. Als weiteres Element der Fibrillenbildung ist das Z-Band zu betrachten. Es ist vorerst noch parallel zur Faserlängsachse langgestreckt, liegt aber bereits in frühen Bildungsstadien an verschiedenen Stellen im gleichen Abstand und auf gleicher Höhe, was zu einer Ordnung unter den sich bildenden Fibrillen führt. Abb. 2 zeigt, daß das neugebildete Z-Band (Z_1) auf gleicher Höhe entsteht wie das schon vorhandene (Z_2). An der Bildung sind offenbar auch Polysomen beteiligt. Die Aktinfilamente stehen schon sehr früh in enger Beziehung zu den Z-Bandanlagen; sie ragen auf beiden Seiten des Z-Bandes bündelförmig heraus (Abb. 16) und stehen zum Teil schon mit Myosinfilamenten in seitlicher Verbindung. Außerdem werden eine ganze Anzahl von Microtubuli in das Z-Band eingebaut (Abb. 15 und 16).

4. Am 11. Tag (Abb. 18) treten in strengen periodischen Abständen von 400 Å im I-Band Verdickungen der Aktinfilamente in Erscheinung. Nach Hanson und Lowy [1963] ist dies auf die Kombination von Aktin mit einem anderen Material, etwa Tropomyosin B, zurückzuführen.

Noch liegen am 11. Tag viele Filamente, Myosin- und vor allem Aktinfilamente, außerhalb der andeutungsweise geformten Fibrillen. In Querschnitten vom 11. Tag zeigt sich wohl eine verstärkte Neigung zur Bündelbildung gegenüber dem 9. Tag (Abb. 17), einzelne Myofibrillen sind aber noch nicht klar voneinander abzugrenzen.

Eine fortschreitende Unterteilung erfahren die Fibrillen durch die Mitochondrien, die durch starkes Wachstum und Vermehrung immer mehr den interfibrillären Raum beanspruchen, der aber seinerseits zuerst geschaffen werden muß. Es ist nicht festzustellen, ob sie lediglich dem wegbereitenden ER folgen. Aus der Abb. 19 geht aber hervor, daß das ER aktiv bei der Unterteilung der Fibrillen mitwirkt. Auf diesem Bild ist deutlich sichtbar, wie sich die Bläschen des ER wie ein Keil zwischen die Filamentreihen schieben und diese unter Lösen der Brücken auseinander drücken, während auf einer kurzen Strecke noch das durchgehende hexagonale Muster erkennbar ist.

Etwa am 13. Tag ist die Fibrillenbildung, zumindest was die Anordnung und Unterteilung betrifft, in der Mitte der Faser abgeschlossen. Die Filamente sind noch nicht überall durchgehend zum hexa-

gonalen Muster geordnet, die Fibrillen bilden aber abgeschlossene Bündel. In den peripheren Regionen des Faserquerschnittes hingegen findet die fibrilläre Unterteilung erst am 16. Tag ihren Abschluß.

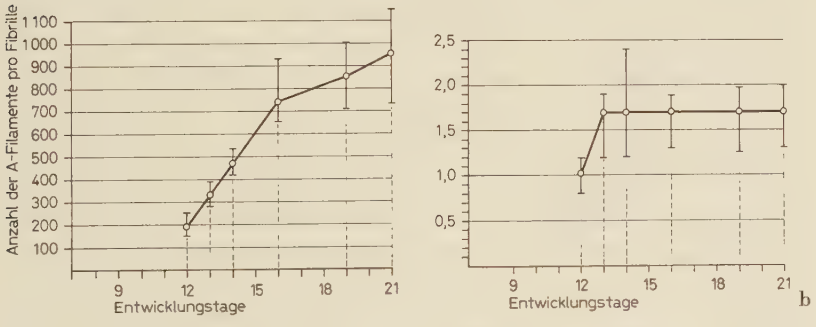
Die Länge der Sarkomeren wird bereits bei der Bildung der Z-Bänder am 9. bis 10. Tag festgelegt. Dadurch ist die Sarkomerenlänge von ca. 3,5 μ gegeben; sie entspricht derjenigen im nicht kontrahierten adulten Muskel und wird später nur noch durch Kontraktion oder Dehnung verändert. ARONSON [1961] beschreibt hingegen bei der Milbe eine Verlängerung der Sarkomeren während der Muskelentwicklung.

b) *Wachstum der Fibrillen*

Die Fibrillen nehmen durch Neubildung von Filamenten an Umfang zu. Es finden sich zwischen den Fibrillen noch membrangebundene Ribosomen und Polysomen. Die Polysomen sind am 11. und 12. Tag noch deutlich als solche erkennbar, doch später erscheinen immer mehr Glykogen-ähnliche Granula, so daß die Polysomen nicht immer identifizierbar sind.

Mit zunehmender Filamentzahl nehmen die Microtubuli ab. Sie liegen am 12. Tag noch zahlreich in der Umgebung der Fibrillen; einzelne liegen sogar mitten in den Fibrillen. Am 16. Tag sind sie nur noch vereinzelt vorhanden, um dann im adulten Muskel ganz zu fehlen.

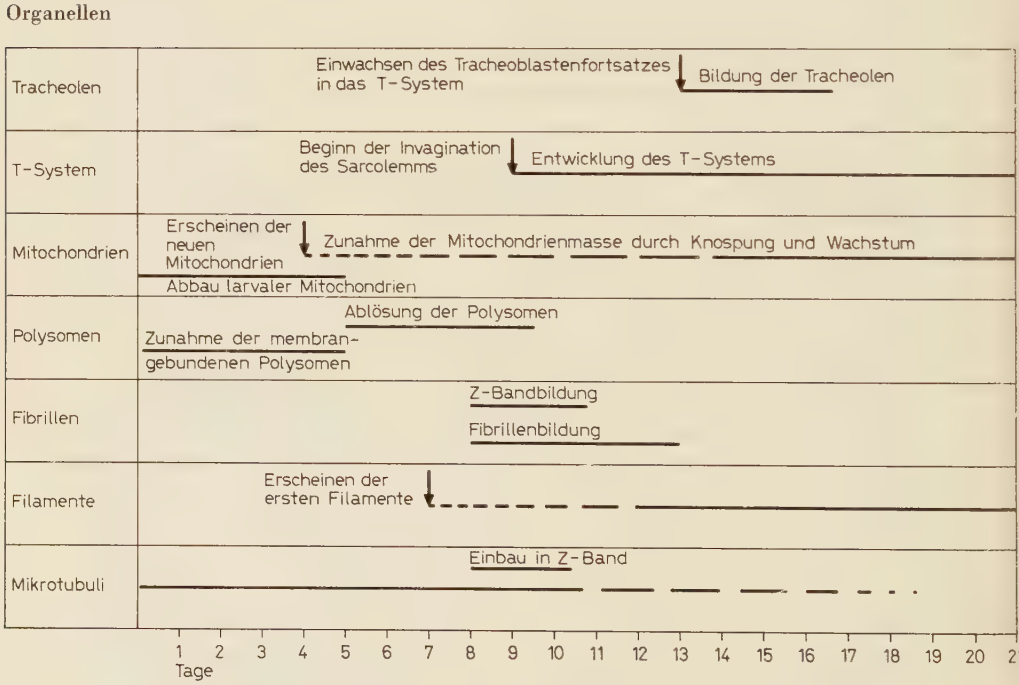
Ein Vergleich der beiden Kurven in Schema II zeigt, daß zwar der Fibrillendurchmesser am 13. Tag bereits den definitiven Wert erreicht hat, daß aber die Filamentzahl pro Fibrille bis zum Schlüpftag noch



Schema II a und b. – a) In dieser Kurve wird die Zunahme der A-Filamente pro Fibrille (Abszisse) während den letzten zehn Entwicklungstagen (Ordinate) dargestellt. – b) Der Fibrillendurchmesser, der hier in μ angegeben ist, nimmt nur bis zum 13. Tag zu, nachher bleibt er bis zum Schlüpftag gleich.

laufend zunimmt; und zwar hauptsächlich zwischen dem 12. und dem 16. Tag. (Die angegebenen Werte stellen je das arithmetische Mittel von 5 6 Fibrillen pro Entwicklungstag dar.) Dies ist wohl darauf zurückzuführen, daß die Ordnung im hexagonalen Muster, die am 16. Tag von den Filamenten schon sehr streng eingehalten wird, am 13. Tag noch nicht durchgehend vorhanden ist. Die Abstände zwischen den Filamenten sind vielfach noch unregelmäßig und vor allem im allgemeinen größer als am 16. Tag, was im Verhältnis zur Filamentzahl einen größeren Durchmesser bewirkt.

Nach EIGENMANN [1965], der die Entwicklung der Flugmuskulatur bei *Antheraea pernyi* lichtmikroskopisch verfolgte, nimmt die Faserdicke bis zum Schlüpftag dauernd zu. Er beobachtete, daß das Dikkenwachstum auf der Vermehrung der Myofibrillen durch Längsteilung beruht. Mit dem Elektronenmikroskop konnte zwischen dem 16. Tag und Schlüpftag nur selten Längsteilung von Fibrillen gefunden werden, was wohl durch das kleine elektronenmikroskopische Gesichtsfeld bedingt ist.



Schema III. Übersicht über die Entwicklung verschiedener Zellorganellen.

c) Endoplasmatisches Retikulum und Mitochondrien

Vom 11. Tag an nähern sich die Vesikel des endoplasmatischen Retikulums den Z-Bändern (Abb. 8). Gleichzeitig wird das längs den Fibrillen verlaufende endoplasmatische Netz immer besser ausgebaut, doch erreicht es seine endgültige Dichte in Form einer Hülle rund um die Fibrillen erst in den allerletzten Stadien.

Sowohl Triaden wie Mitochondrien besitzen am 13. und 14. Tag vereinzelt ihre definitive Verteilung. Am 15. und 16. Tag sind die Triaden schon ziemlich regelmäßig, wenn auch nicht immer vollkommen ausgebildet, in der Mitte zwischen H- und Z-Band, zwischen je zwei Mitochondrien liegend, anzutreffen. Die Mitochondrien sind zwar zu dieser Zeit in Struktur und Größe noch nicht voll entwickelt, doch nehmen sie schon in den meisten Fällen den Platz ein, der ihnen im adulten Muskel zugeordnet ist.

Diskussion der Ergebnisse

Microtubuli

Schon in den Myoblasten des Diapausestadiums treten die Microtubuli als stark auffallendes Element hervor. Solche Tubuli wurden zuerst von Auber [1962, 1964a und b] als eigentliche Filamentvorläufer betrachtet; später revidierte er allerdings diese Ansicht [1965], weil neuere Untersuchungen an *Calliphora erythrocephala* ergaben, daß die Tubuli in der aktivsten Phase der Myogenese fehlen. Diese tubulären Gebilde entsprechen den Microtubuli, wie sie von Behnke [1964] in differenzierten und undifferenzierten Vertebratenzellen und von de Thé [1964] in verschiedenen Vertebratenzellen, vor allem Tumoren, beschrieben wurden. In dieser Arbeit wurde dieser Begriff für die beobachteten Tubuli übernommen, ohne damit die Homologie der Strukturen zu behaupten. Entscheidend bei all diesen Arbeiten, wie auch bei der vorliegenden, ist die Glutaraldehydfixierung, die für das Sichtbarwerden der Tubuli erforderlich ist. Andere Autoren, die sich ebenfalls mit der Muskelentwicklung befaßten, erwähnen nirgends solche röhrchenförmigen Plasmastrukturen, was wohl darauf zurückzuführen ist, daß in ihren Arbeiten hauptsächlich OsO_4 als Fixiermittel verwendet wurde.

Über die Bedeutung der Microtubuli in Interphasezellen wurden verschiedene Vermutungen aufgestellt. De Thé nimmt an, daß es sich entweder um Rudimente der mitotischen Fasern (Spindelapparat)

handelt, welche während der Interphase keine Rolle spielen, oder daß die Tubuli aktiv an der Bildung der Zellform teilnehmen. Eine weitere mögliche Funktion wäre die Leitung von Wasser und kleinen Molekülen im Zytoplasma. Vor allem die zweite der erwähnten Möglichkeiten könnte ohne weiteres für die in *Antheraea pernyi* beschriebenen Tubuli als Bedeutung in Frage kommen, denn die Orientierung parallel zur Längsachse deutet auf eine ausrichtende und formgebende Funktion der Microtubuli hin. In diesem Sinne könnte auch der Einbau der Microtubuli in Z-Bänder ausgelegt werden: Sie scheinen als ausrichtendes Element zu wirken, das möglicherweise für das geradlinige Hintereinanderliegen der Z-Bänder in der späteren Fibrille und vielleicht auch für deren gegenseitigen Abstand verantwortlich ist.

Proteinsynthese

Die quantitative Erfassung der membrangebundenen Ribosomen sowie der Polysomen während den ersten neun Entwicklungstagen zeigte (Schema I), daß die Polysomen wahrscheinlich durch Ablösung der membrangebundenen Ribosomen von den Vesikeln des ER entstehen, und daß sie dann während der aktivsten Phase der Proteinsynthese am stärksten vertreten sind. Zu ähnlichen Resultaten gelangte Heuson-Stiennon [1964, 1965] bei der Untersuchung von Skeletmuskeln von Rattenembryonen. Neben polymorphen Polysomen finden sich auch zahlreiche Ketten (Waddington und Perry [1963]). Hinsichtlich der Funktion konnten die beiden Polysomentypen nicht unterschieden werden.

Myogenese

Myosinfilamente: Die zwischen den Polysomen liegende kurzfaserige Substanz ist wohl als Syntheseprodukt der Polysomen zu betrachten. Sie besteht aus außerordentlich locker gebauten und deshalb sehr unscharf begrenzten kurzen Fäserchen mit unregelmäßigen Auswüchsen; eine genaue Messung ist leider nicht möglich. Es ließe sich dennoch denken, daß sie mit Myosinmolekülen identisch sind, welche mit einer Länge von etwa 1600 Å (Huxley [1963]) wesentlich kürzer sind als die Untereinheiten des Aktins. Die Tatsache, daß dieses kurzfaserige Material auch vor allem an Stellen auftritt, wo Filamente in Bildung sind, unterstützt diese Hypothese ebenfalls. Auber ([1965], bei Flugmuskeln von *Calliphora*) und Heuson-Stiennon ([1965], bei Rattenmuskeln) kommen zum Schluß, daß die Myosinfilamente aus dünnen Vorstufen durch Verdickung, also durch An-

lagerung von weiterem Material entstehen. Dies steht zwar grundsätzlich im Einklang mit der oben aufgestellten Hypothese, da die Myosinfilamente tatsächlich durch Zusammenlagerung von Myosinfäserchen zu entstehen scheinen, jedoch ist die Erscheinungsform eine andere: Durch die Vereinigung der unregelmäßigen Fasern entsteht ein lockeres Aggregat, das erst durch Verdichtung dünner wird. Daraus erklärt sich, daß die einzelstehenden frisch gebildeten Myosinfilamente eher einen größeren Durchmesser aufweisen als später.

Aktinfilamente: Die langen feinen Fäden, die ebenfalls überall zwischen den Polysomen das faserige Material durchziehen, sind möglicherweise als Untereinheiten des Aktins zu betrachten. Ihre Länge ist nicht genau festzustellen, da sie nicht in einer Ebene liegen, was durch ihren noch recht dünnen Bau bedingt ist. Sie sind aber immer länger als 1600 Å und es wurden sogar solche mit einer Länge von fast einem μ gemessen. Nach Hanson und Lowy [1963] bilden zwei solcher Untereinheiten ein Aktinfilament in Form einer Doppelspirale. Diese feinen Fäden haben etwa eine Dicke von 30–40 Å, also die Hälfte des Durchmessers eines Aktinfilaments mit 70Å . Das ergibt eine sehr gute Parallele zu der Feststellung von Hanson und Lowy [1963], daß zwei solcher Untereinheiten ein Aktinfilament in Form einer Doppelspirale bilden. Offenbar wird die Z-Bandanlage durch Anlagerung von feinen Filamenten dicker; diese entsprechen in Dicke, Länge und Struktur den oben beschriebenen Aktinuntereinheiten. Diese Fasern setzen sich zu dem dichten Z-Material zusammen, wo sie, wie es scheint, durch eine Kittsubstanz zusammengehalten werden. Die auf beiden Seiten des Z-Bandes herausragenden Filamentenden sind oft schon in seitlicher Verbindung mit Myosinfilamenten zu beobachten, was darauf hinweist, daß es sich um richtige I-Filamente handelt. Wie in der Diskussion unserer vorhergehenden Arbeit ([1968], Seite 430) ausgeführt wurde, sind sie außerhalb des Z-Materials durch Zusammenlagerung von je zwei der Z-Band bildenden Fäserchen entstanden.

Der Einbau von Microtubuli hat wohl kaum direkt etwas mit der Synthese des Z-Bandes zu tun, sondern ist, wie schon erwähnt, eher als richtunggebendes Element aufzufassen.

Die schon recht frühe Bildung von dichtem Z-Band-Material im ganzen Plasma, und nicht nur an der Zellmembran, wie dies von Heuson-Stiennon [1965] gesehen wird, liefert möglicherweise im licht-

mikroskopischen Bild die Grundlage für die von Godlewski [1902] vertretene Vorläufergranulatheorie, die von Eigenmann [1965] wieder aufgegriffen wird. Eigenmann beobachtet allerdings solche Granula schon in sehr frühen Stadien, was sich mit den elektronenoptischen Bildern, wo die Z-Bänder erst am 8.–9. Tag erscheinen, nicht bestätigen läßt.

Mitochondrien

Seit der Entwicklung des Elektronenmikroskops ist immer wieder versucht worden, durch eingehende Studien Kenntnisse über die Bildung von Mitochondrien zu erhalten. Es konnte aber bis jetzt noch keine allgemein anerkannte Auffassung gewonnen werden.

Einige Hypothesen beruhen auf der Annahme, daß die Mitochondrien durch Umwandlung von bereits vorhandenen Körpern und Membranen entstehen; so z.B. durch Teilung und Umwandlung von bereits vorhandenen Mitochondrien (Herold [1965], Flugmuskel der Biene; Luck [1963], in Neurospora), durch Differenzierung von Microbodies (Rouiller und Bernhard [1956], in der Leber) oder durch entsprechende Faltung von bereits vorhandenen Membranen (Bade [1964], regenerierende Mäuseleber). Eine weitere mögliche Theorie ist die Entstehung der Mitochondrien durch *de novo* Synthese (Berger [1964], Retina).

Auch die Beobachtungen an *Antheraea pernyi* ergeben noch kein eindeutiges Bild. In der imaginalen Muskelanlage der Diapausepuppe von *Antheraea pernyi* sind larvale Mitochondrien vorhanden, doch wird ein großer Teil davon während den ersten Entwicklungstagen zytosomal abgebaut. Da aber in diesen Stadien dauernd einige intakte Mitochondrien vorhanden sind, dürfte wenigstens ein Teil erhalten bleiben. Dies würde eine Basis für die erste der oben erwähnten Theorien liefern. Die auf S. 535 geschilderte Bildung doppelwandiger Auswüchse an intakten Mitochondrien kann als Vermehrung durch Knospung gewertet werden. Die Bildung von Cristae und einer dichten Matrix führen zu den Doppelmitochondrien, wie sie am 10. Tag zu finden sind. Durch Abschnürung entsteht dann in der Folge ein neues Mitochondrium.

Trotzdem ist es nicht ausgeschlossen, daß daneben noch neue Mitochondrien entstehen. In dieser Richtung weisen gewisse Körper, die am 4. Tag beobachtet werden konnten. Sie besitzen nur eine einfache Membran und weisen einen etwas elektronendichteren Inhalt auf. Ihre Entstehung ist möglicherweise auf Abschnürung von Ergasto-

plasmateilen zurückzuführen. Dies steht allerdings im Widerspruch zu den von NASS und NASS [1963] erhaltenen Resultaten – sofern man diese verallgemeinern will – die einen Nachweis von DNS in der Mitochondrienmatrix von Hühnchenembryonen zeigen. Mit unserer Beobachtung könnte jedoch die Herkunft der Mitochondrien-DNS nicht erklärt werden; auch eine Suche nach solchen Formen, die in direktem Zusammenhang mit der Kernmembran entstehen, blieb erfolglos. Sofern Mitochondrien-DNS hier überhaupt vorliegt, muß die Frage nach ihrer Herkunft offen bleiben.

Mitochondrien-RNS ist in jungen Mitochondrien in Form von Ribosomen zu erkennen. Die Auffassung von BADE [1964], daß diese Ribosomen durch einen «membrane flow» des ER aus dem Zytoplasma ins Innere der Mitochondrien gelangen, kann nicht bestätigt werden, da die mitochondrialen Ribosomen wesentlich kleiner sind als die zytoplasmatischen.

Die Bildung der Doppelmembran ist ebenfalls noch als ungelöstes Problem zu betrachten. Eine mögliche Hypothese über die Entstehung der Doppelmembran beruht auf der Beobachtung, daß die Außenmembran einer großen Zahl von jungen Mitochondrien Ausbuchtungen oder sogar Übergänge in die Membranen des ER aufweisen. Dies ließe die Vermutung zu, daß die Außenmembran im Zusammenhang mit dem ER entstanden ist.

Sarcolemm und T-System

NÜESCH [1965] konnte am Flugmuskel von *Antheraea polyphemus* zeigen, daß schon am 9. Tag durch Stimulation eine Kontraktion herbeigeführt werden kann. Die Reizschwelle ist jedoch noch außerordentlich hoch und die Reaktion ungleich viel langsamer und schwächer als im adulten Muskel, und außerdem erfolgt sie streng lokal zwischen den im Muskel steckenden Elektroden. Wohl ist die geringe Ansprechbarkeit auf die in diesem Stadium noch recht fragmentarische Ausbildung des kontraktilen Materials zurückzuführen, hingegen beruht die Langsamkeit und die Lokalisierung der Reaktion wahrscheinlich auf dem Umstand, daß das T-System am 9. Tag erst am Beginn seiner Bildung steht. Das T-System ist als Fortsetzung der Plasmamembran ins Innere der Muskelfaser zu betrachten; es könnte somit für die Verteilung des Reizes verantwortlich sein. Erst nach dem vollständigen Eindringen der Plasmalemmröhren ins Innere der Faser am 11. Tag wird nach Stimulation eine langsame Kontraktionswelle möglich, die über die Faser wegläuft.

Tracheolen

Die Tätigkeit des Flugmuskels bedingt eine ausreichende Sauerstoffzufuhr, die durch eine sehr reiche Tracheenversorgung gewährleistet wird. Die Fasern sind durch zahlreiche Tracheenäste umsponnen, von denen aus Tracheolen in die Fasern ziehen. Sie verlaufen in den Röhren des T-Systems. Am 13. Tag beginnen Fortsätze der Tracheoblasten in dieses Röhrensystem einzuwachsen. In den nächsten Tagen werden diese Fortsätze durch Bildung der Chitinintima in Tracheolen umgewandelt. Die Intima besteht hauptsächlich aus Chitin, daneben sind aber auch Proteine und andere Komponenten am Aufbau beteiligt (Locke [1964]). Die Proteinsynthese erfolgt wohl durch die im Plasmafortsatz reichlich vorhandenen membrangebundenen Ribosomen. Wie ein Schnitt durch einen Muskel am 15. Tag zeigt, haben plasmatische Vakuolen Anteil an der Bildung der Tracheolenintima, indem sie ihren Inhalt lumenwärts entleeren.

Schon während der Bildung der Tracheolenintima beginnt das Zytoplasma des Fortsatzes zu schwinden. Es wird bis zum Adultstadium auf die innere und äußere Grenzmembran reduziert. Diese Feststellung bestätigt weitgehend das Ergebnis der Untersuchungen von Vogell [1965] an den Flugmuskeln von *Locusta migratoria*. Vogell beobachtete allerdings nach der Reduktion des Plasmaausläufers bei *Locusta* nur noch eine Grenzmembran, während bei *Antheraea pernyi* im Imaginalstadium eindeutig eine Doppelmembran übrig bleibt.

Zusammenfassung

Die Myoblasten der Muskelanlage im Diapausestadium sind langgestreckte Zellen mit Kernreihen; die Kerne enthalten 1–2 Nukleolen.

Polysomen, die wahrscheinlich durch Ablösung von den Vesikeln des endoplasmatischen Retikulum entstehen, synthetisieren Muskelproteine, die vorerst in Form von faserigem Material und feinen langen Fäden vorliegen, um sich dann in Myosin- resp. Aktinfilamente zu verwandeln.

Im Laufe der Muskelentwicklung nimmt das endoplasmatische Retikulum volumenmäßig zu, unter Bildung von Vakuolen mit Ribosomen besetzten Innenräumen. Beobachtungen sprechen dafür, daß sich zwischen 5. und 9. Tag Gruppen als Polysomen ablösen.

Das T-System entsteht vom 9. Tag an durch Invagination der Plasmamembran.

Die Larvalmitochondrien werden während der ersten Stadien großenteils abgebaut; einige davon bleiben möglicherweise erhalten. Am 4. Tag treten Formen auf, die sich als Neubildung von Mitochondrien deuten lassen. Am 5. und 10. Tag wurden Doppelformen gefunden, die auf eine Vermehrung der Mitochondrien durch Knospung hinweisen.

Die Filamente entstehen gruppenweise. Die Brücken, die Z-Bänder und das endoplasmatische Retikulum sind als weitere morphogenetische Prinzipien der Fibrillenbildung zu betrachten. Am 16. Tag sind die Fibrillenbildung sowie das Dickenwachstum der Myofibrillen weitgehend abgeschlossen.

Am 13. Tag beginnen zytoplasmatische Fortsätze der Tracheenendzellen in die Plasmalemmröhren des T-Systems einzudringen.

Summary

The anlagen of adult muscles of the diapausing pupa are thin strings of myoblasts containing rows of nuclei.

During development of the adult muscles the volume of the endoplasmic reticulum increases. Observations suggest that polysomes are produced by liberation of groups of ribosomes from the endoplasmic reticulum between the 5th and 9th day of development. These polysomes synthesize muscle proteins. Initially these proteins appear as short-fibrous material and thin long filaments; later they fuse to myosin or actin filaments respectively.

Beginning on the 9th day of development the transversal system is formed by invagination of the plasma membrane.

During the first days of adult development larval mitochondria disintegrate to a great extent. However some of them may remain intact. Bodies which appear on the 4th day may be regarded as new formations of mitochondria. Double forms found on the 5th and 10th day point to a multiplication of the mitochondria by gemmation.

The filaments are formed in clusters. As further morphogenetic principles of the formation of the myofibrils the cross-bridges, the z-bands and the endoplasmic reticulum may be considered. The formation as well as the growth of the fibrils is completed on the 16th day.

Beginning on the 13th day cytoplasmic branches of the tracheal end-cells penetrate into the transversal system.

Résumé

Les myoblastes de la nymphe en diapause sont des cellules très longues caractérisées par des rangées de noyaux avec plusieurs nucléoles.

Au cours de la différenciation, le réticulum endoplasmique à ribosomes se développe. Quelques observations suggèrent que des polysomes se séparent du réticulum endoplasmique entre le 5^{e} et le 9^{e} jour. Ces polysomes synthétisent des protéines musculaires d'abord sous forme d'aggrégats fibreux et de longs filaments très fins. Ceux-ci se transforment plus tard en filaments d'actine ou de myosine.

A partir du 9^{e} jour, le système transversal se forme par des invaginations de la membrane plasmatique de la fibre musculaire.

Pendant les premiers stades la plupart des mitochondries larvaires subissent une dégénérescence; mais il est probable que quelques-unes d'entre elles restent intactes. Certains corps qui apparaissent au 4^{e} jour pourraient être considérés comme une nouvelle formation de mitochondries. Des formes doubles, rencontrées le 5^{e} et le 10^{e} jour permettent l'interprétation que les mitochondries se multiplient par gemmation.

Les filaments se forment en groupes. En outre, les ponts, les stries Z et le réticulum

endoplasmique semblent être responsables de la formation des myofibrilles. La formation, ainsi que la croissance est achevée le 16e jour. Des prolongements cytoplasmiques de «cellules terminales des trachées» commencent à pénétrer dans le système transversal au 13e jour.

Literatur

André, J. et Marinozzi, V.: Présence, dans les mitochondries de particules ressemblant aux ribosomes. J. Micr. *4:* 615–626 (1966).

Aronson, J.: Sarcomere size in developing muscles of tarsonemid mite. J. biophys. biochem. Cytol. *11:* 147–156 (1961).

Auber, J.: Mode d'accroissement des myofibrilles au cours de la nymphose de *Calliphora erythrocephala*. C. R. Acad. Sci. *254:* 4074–4075 (1962). – Les premiers stades de la fibrillogénèse dans les muscles du vol de *Calliphora erythrocephala*. C. R. Acad. Sci. *258:* 708–710 (1964a). – Mode de formation des myofibrilles dans les muscles du vol des Diptères. 3rd Europ. Reg. Conf. Electron Microscopy, Prague, pp. 75–76 (1964b). – Sur le mécanisme de la formation des filaments primaires au cours de l'accroissement des myofibrilles chez *Calliphora erythrocephala*. C. R. Acad. Sci. *260:* 668–670 (1965).

Bade, E. G.: Bildung von Mitochondrien in der regenerierenden Leber der Maus. Z. Zellforsch. *61:* 754–768 (1964).

Behnke, O.: A preliminary report on «microtubules» in undifferentiated and differentiated vertebrate cells. J. Ultrastruct. Res. *11:* 139–146 (1964).

Berger, E. R.: Mitochondria genesis in the retinal photoreceptor inner segment. J. Ultrastruct. Res. *11:* 90–111 (1964).

Bergmann, R. A.: Observations on the morphogenesis of rat skeletal muscle. Bull. Johns Hopk. Hosp. *110:* 187–201 (1962).

Cedergren, B. and Harary, I.: *In vitro* studies on single beating rat heart cells. VI. Electron microscopic studies of single cells. J. Ultrastruct. Res. *11:* 428–442 (1964). – VII. Ultrastructure of the beating cell layer. J. Ultrastruct. Res. *11:* 443–454 (1964).

Chandra, S.: The reversal of mitochondrial membrane. J. Cell Biol. *12:* 503–513 (1962).

Eigenmann, R.: Untersuchungen über die Entwicklung der dorsolongitudinalen Flugmuskeln von *Antheraea pernyi* Guer. (*Lepidoptera*). Rev. suisse Zool. *72:* 789–840 (1965).

Godlewski, E.: Die Entwicklung des Skelett- und Herzmuskelgewebes der Säugetiere. Arch. mikr. Anat. *60:* 111–156 (1902).

Hanson, J. and Lowy, J.: The structure of F-actin and of the actin filaments isolated from muscle. J. mol. Biol. *6:* 46–60 (1963).

Hay, E. D.: The fine structure of differentiating muscle in the salamander tail. Z. Zellforsch. *59:* 6–34 (1963).

Herold, R. C.: Development and ultrastructural changes of sarcosomes during honey bee flight muscle development. Develop. Biol. *12:* 269–286 (1965).

Heuson-Stiennon, J.-A.: Intervention des polysomes dans la synthèse des myofilaments du muscle embryonnaire du rat. J. Micr. *3:* 229–232 (1964). – Morphogenèse de la cellule musculaire striée, étudiée au microscope électronique. I. Formation des structures fibrillaires. J. Micr. *4:* 657–678 (1965).

Huxley, H. E.: Electron microscope studies on the structure of natural and synthetic protein filaments from striated muscle. J. mol. Biol. *7:* 281–308 (1963).

Koshihara, H. and Maruyama, K.: Changes in fine structure of honeybee thoracic muscle during pupal development. Sci. Papers Gen. Educ. *8:* 213–217 (1958).

Locke, M.: The structure and formation of the integument of insects; in: The Physiology of Insecta, vol. 3, pp. 379–470 (Acad. Press, New York/London 1964).

Luck, D. J. L.: Formation of mitochondria in Neurospora crassa. A quantitative radioautographic study. J. Cell Biol. *16:* 483–499 (1963).

Nass, M. M. K. and Nass, S.: Intramitochondrial fibers with DNA characteristics. I. Fixation and electron staining reactions. J. Cell Biol. *19:* 593–611 (1963). – II. Enzymatic and other hydrolytic treatments. J. Cell Biol. *19:* 613–629 (1963).

Nüesch, H.: Das thorakale Nervenmuskelsystem der Puppe von *Telea polyphemus*. Rev. suisse Zool. *62:* 211–218 (1955). – Die Morphologie des Thorax von *Antheraea polyphemus*. Zool. Jb., Anat. *75:* 615–642 (1957a). – Über die Bedeutung des Nervensystems für die Entwicklung anderer Organe. Verh. naturforsch. Ges. Basel *68:* 194–216 (1957b). – Zur Entwicklung der Muskelfunktion. Verh. naturforsch. Ges. Basel *73:* 352–353 (1962). – Die Imaginal-Entwicklung von *Antheraea polyphemus Cr.* (*Lepidoptera*). Zool. Jb., Anat. *82:* 393–418 (1965a). – Über die strukturelle und funktionelle Entwicklung des Muskels. Z. Naturforsch. *20b:* 343–347 (1965b).

Rouiller, C. and Bernhard, W.: "Microbodies" and the problem of mitochondrial regeneration of liver cells. J. biophys. biochem. Cytol. Suppl. 4 ad *2:* 355–360 (1956).

Shafiq, S. A.: Electron microscopic studies on the indirect flight muscles of *Drosophila melanogaster*. II. Differentiation of myofibrils. J. Cell Biol. *17:* 363–374 (1963).

Stoeckenius, W.: An electron microscope study of myelin figures. J. biophys. biochem. Cytol. *5:* 491–500 (1959).

Strohman, R. C.; Cerwinsky, E. W. and Holmes, E. W.: Protein synthesis in developing muscle: incorporation of 14C-leucine into protein by muscle minces. Exp. Cell Res. *35:* 617–628 (1964).

Tahmisian, T. N.: An electron microscope study of sarcoblast karyoklasis during myogenesis in grasshopper embryos. Acta anat. *56:* 1–20 (1964).

Thé, G. de: Cytoplasmic microtubules in different animal cells. J. Cell Biol. *23:* 265–275 (1964).

Vogell, W.: Phasen der Bildung morphologischer Muster des Flugmuskels der Wanderheuschrecke. 103. Vers. d. Ges. dtsch. Naturf. u. Ärzte. Naturwissenschaften *14:* 172–185 (1965).

Waddington, C. H. and Perry, M. M.: Helical arrangement of ribosomes in differentiating muscle cells. Exp. Cell Res. *30:* 599–600 (1963).

Wettstein, F. O.; Staehelin, T. and Noll, G.: The ribosomal aggregate engaged in protein synthesis: characterization of the ergosome. Nature, Lond. *197:* 430–435 (1963).

Eingegangen 28. Februar 1967

Adresse der Autorin: Dr. Gertrud Bienz-Isler, Institut für Mikrobiologie und Hygiene, Petersplatz 10, *4000 Basel* (Schweiz)

Curriculum vitae

Am 24. Februar 1940 wurde ich, Gertrud Bienz geb. Isler als Tochter des Heinrich Isler gest. und der Rosa geb. Schmid, Hausfrau, in Basel geboren. Mein Bürgerort ist Basel. Hier besuchte ich auch die Primarschule und trat im Frühling 1951 in das Mädchengymnasium ein, wo ich im Frühjahr 1960 die kantonale Maturität bestand. Anschließend immatrikulierte ich mich an der Universität Basel, wo ich als Hauptfach Zoologie und als Nebenfächer Chemie, Bakteriologie und Botanik studierte. Ich besuchte die Vorlesungen und Praktika folgender Herren Professoren und Privatdozenten: K. Bernhard, M. Brenner, H. Dahn, H. Erlenmeyer, T. Freyvogel, G. Geiger-Huber, C. Grob, R. Geigy, P. Huber, H. Löffler, H. Nüesch, A. Portmann, M. Reiff, R. Schenkel, W. Stingelin, P. Schmid, J. Tomcsik, H. Zoller. Seit dem Wintersemester 1963/64 war ich unter Leitung von Herrn Prof. Dr. H. Nüesch mit meiner Dissertation beschäftigt.